



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS, ANATÔMICOS  
E BIOSÍNTESE DE FLAVONÓIDES EM  
PLANTAS JOVENS DE *Bauhinia forficata* Link.  
SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE  
IRRADIÂNCIA.**

**EVA MARIA ALVES CAVALCANTI ATROCH**

1999

47229

33167 MFN

**EVA MARIA ALVES CAVALCANTI ATROCH** UFLA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS, ANATÔMICOS E BIOSÍNTESE  
DE FLAVONÓIDES EM PLANTAS JOVENS DE *Bauhinia forficata*  
Link. SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE IRRADIÂNCIA.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de "Mestre".

Orientadora

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Angela Maria Soares

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
1999

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Atroch, Eva Maria Alves Cavalcanti

Aspectos fisiológicos anatômicos e biossíntese de flavonóides em plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância / Eva Maria Alves Cavalcanti Atroch. – Lavras : UFLA, 1999.

62 p. : il.

Orientadora: Angela Maria Soares.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Fisiologia. 2. Irradiância. 3. Flavonóide. 4. Hipoglicemiante. 5. Anatomia. 6. *Bauhinia forficata*. 7. Pata de vaca. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-583.323041

**EVA MARIA ALVES CAVALCANTI ATROCH**

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS, ANATÔMICOS E BIOSÍNTESE  
DE FLAVONÓIDES EM PLANTAS JOVENS DE *Bauhinia forficata*  
Link. SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE IRRADIÂNCIA.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de "Mestre".

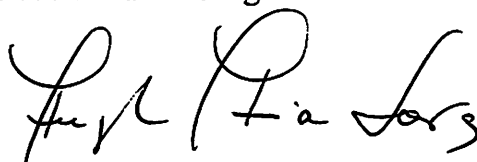
APROVADA em 14 de maio de 1999

Prof.<sup>o</sup> Dr. Amauri Alves de Alvarenga

UFLA

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Cláudia Marx Young

IBt-SP



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Angela Maria Soares

UFLA

(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL



*“A natureza na sua quietude construtiva, na sua lentidão de criar e transformar na paz da elaboração clorofiliana, no sossego das reações biológicas que demoram séculos, é um exemplo admirável de equilíbrio, de sincronização de movimentos e de combinação de cores.”*

**Prof.º José Guimarães Duque**

À memória de meu pai, Otávio, quem sempre incentivou, com sua honestidade,  
determinação e carinho, a formação de seus filhos.

À minha mãe, Maria, por sua dedicação e amor.

Aos meus irmãos, Célia e Neto, que mesmo distantes sempre são fontes  
inesgotáveis de estímulo e amizade.

Ofereço

Aos meus queridos filhos, Tiago e Daniel, e ao meu esposo, André, os quais com  
permanente carinho e apoio possibilitaram-me atingir essa meta.

Dedico

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que tenho e sou.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), especialmente ao Departamento de Biologia, pela oportunidade de realização do curso.

À Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), por investir na minha qualificação profissional.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

À Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Ângela Maria Soares, pela orientação, amizade e, sobre tudo, por sua serenidade.

Ao Prof.<sup>º</sup> Dr.<sup>º</sup> Amauri Alves de Alvarenga, pela coorientação e apoio.

Às Dr.<sup>as</sup> Cecília Terumi Teradaira Blatt e Maria Cláudia Marx Young, Instituto Botânico de São Paulo, por suas valiosas orientações.

Ao Prof.<sup>º</sup> Evaristo Mauro de Castro, por sua orientação nos estudos anatômicos.

À Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Janice Guedes de Carvalho, pela atenção e colaboração quanto ao estado nutricional das plantas.

Aos professores, Luiz Edson Mota de Oliveira, Renato Paiva, José Donizette, Amauri Alves de Alvarenga e Ângela Maria Soares, pelos ensinamentos e amizade.

À Prof.<sup>ª</sup> Katy Motinha, da UNIFAP, por seu empenho em minha formação e pela confiança em minha pessoa.

Aos professores, Luiz Isamu Barros Kanzaki e Sílvio Wigwam Mendes Pereira, da UNIFAP, por suas contribuições para o meu crescimento científico.

Ao pesquisador Benedito Vitor Rabelo do Instituto de Pesquisas do Amapá (IEPA), pela participação e incentivo do meu crescimento profissional.

De maneira especial, à amiga Silvana da Silva, companheira de todas as horas, por toda sua colaboração desde que iniciei o curso até a execução desse trabalho.

Às amigas, Ana Hortência e Josirlei, pela amizade generosa que sempre me dedicaram.

A todos os colegas de curso que me presentearam com sua amizade.

Aos alunos da Iniciação Científica, Eduardo, Graziela, Érico, Rafael e Rodrigo, pela colaboração e agradável convívio.

Aos amigos, Jackson, Jurema e Rosângela, pelo apoio dispensado nos primeiros dias em Lavras.

Aos amigos, Evaristo, Tanhan, Mauro, Izonel e Lena, pela amizade.

Aos colaboradores de campo, Joel e Odorêncio, pelo apoio e amizade.

Aos funcionários da Biblioteca Central, em especial à Maria de Lourdes, pela atenção e amizade.



## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>RESUMO</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b>	4
2. 1 Irradiância e comportamento estomático	4
2. 2 Irradiância e eficiência do fotossistema II	7
2. 3 Irradiância e crescimento	8
2. 4 Irradiância e teores de clorofila	11
2. 5 Compostos secundários	12
2. 5. 1 Flavonóides - metabólitos da rota chiquimato	13
2. 6 Irradiância e características anatômicas de folhas	16
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	19
3. 1 Considerações gerais	19
3. 2 Condições experimentais	20
3. 3 Características fisiológicas	22
3. 4 Teor de flavonóides totais	25
3. 5 Características anatômicas	26
3. 6 Delineamento experimental	27
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	28
4. 1 Características fisiológicas	28
4. 2 Flavonóides totais	39
4. 3 Anatomia foliar	41
<b>5. CONCLUSÕES</b>	47
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	48
<b>ANEXOS</b>	58

## RESUMO

ATROCH, E. M. A. C. Aspectos fisiológicos, anatômicos e biossíntese de flavonóides em plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância. Lavras: UFLA, 1999. 62p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).\*

Estudos que investiguem condições de cultivo de espécies medicinais, associadas à biossíntese das substâncias de interesse, justificam-se pela necessidade de uma exploração econômica desse potencial. Nesse contexto, foram avaliados os efeitos de três níveis de irradiância (100% ou pleno sol, 70% e 50%) em duas épocas distintas, fria/seca e quente/úmida, sobre algumas características fisiológicas, biossíntese de flavonóides totais e características anatômicas de *Bauhinia forficata* Link., espécie de interesse medicinal também promissora em programas de revegetação. O estudo desses efeitos, nas duas épocas, teve o objetivo de determinar as condições sazonais e de irradiância mais propícias para uma maior concentração de flavonóides totais e para a obtenção de melhores mudas. Assim, foram avaliadas, periodicamente, as seguintes características: condutância estomática, potencial hídrico foliar, eficiência fotossintética do fotossistema II, comprimento e diâmetro do caule. Foram também realizadas avaliações dos teores de clorofilas e de flavonóides totais no final de cada época. As características de anatomia foliar, área foliar específica e determinação de matéria seca foram realizadas no final do experimento. Em geral, os resultados demonstraram ser os níveis de 70 e 50% e a época úmida as condições mais favoráveis ao desenvolvimento das plantas. A biossíntese de flavonóides foi semelhante nos níveis de 100 e 70% e superior ao nível de 50%, sendo a época úmida a mais favorável para a síntese desses metabólitos. Em relação às características anatômicas, os níveis de irradiância não influenciaram o número total de estômatos nem os seus diâmetros polar e equatorial, na epiderme abaxial. Contudo, o número de células da epiderme adaxial foi maior a pleno sol, enquanto os tratamentos sombreados foram semelhantes.

---

\* Comitê de Orientação: Angela Maria Soares - UFLA - (Orientadora), Amauri Alves de Alvarenga - UFLA - (Co-Orientador), Cecília Terumi Teradaira Blatt - IBt-SP (Co-Orientadora).

## ABSTRACT

ATROCH, E. M. A. C. **Physiological and anatomical aspects and flavonoids biosynthesis in young plants of *Bauhinia forficata* Link. subjected to different irradiance levels.** Lavras: UFLA, 1999. 62p. (Dissertation - Master in Plant Physiology). \*

Studies that investigate cultivating conditions of medicinal species, associated with biosynthesis of interesting substances, are justified by the need of an economic exploration of this potential. In this context, we evaluated the effects of three irradiance levels (100%, 70% and 50%) in two different seasons (cold/dry and hot/wet), on some physiological characteristics, biosynthesis of total flavonoids and anatomical characteristics of *Bauhinia forficata* Link., a specie of medicinal interest and also promising in revegetation programs. In order to determine the best seasonal conditions and irradiance for larger total flavonoids concentration and obtaining of good seedlings, the following characteristics were periodically evaluated: stomatal condutance, leaf water potential, photosynthetic efficiency of the photosystem II, length and diameter of the stem. We also evaluated of the chlorophyll and total flavonoids contents at the end of each season. The leaves anatomical characteristics, specific leaf area and dry matter determinations were accomplished at the end of the experiment. In general, the results demonstrated that the 70 and 50% and the hot/wet season were the most favorable conditions for plants development. The flavonoids biosynthesis was similar at 100 and 70% and higher that 50% irradiance levels, and the hot/wet season the best these metabolites synthesis. Regarding to the anatomical characteristics, the irradiance levels didn't affect nor the total stomata number neither its polar and equatorial diameters, in the abaxial epidermis. However, the number of cells of the adaxial epidermis was higher at 100% irradiance, while the shaded treatments were similar.

---

\* Orientation Committee: Angela Maria Soares - UFLA - (Advisor), Amauri Alves of Alvarenga - UFLA, Cecília Terumi Teradaira Blatt - IBt-SP.

## 1. INTRODUÇÃO

As pesquisas com plantas medicinais em menor ou maior grau abrangem diferentes áreas do conhecimento. Na etnofarmacologia, os estudos concentram-se no levantamento de informações junto à população, concernentes à forma de preparo, período de coleta e indicações terapêuticas; à botânica em que os estudos atêm-se à identificação, descrição morfológica e compilação de dados em herbários e é complementada pela quimiosistemática. A fitoquímica compreende estudos referentes ao isolamento, purificação e determinação estrutural dos princípios ativos, enquanto a farmacologia e a bioquímica verificam as ações biológicas alegadas ou buscam atividades ainda não relatadas, avaliam a toxicidade e determinam o mecanismo de ação.

A interdependência dessas áreas revela o valor de suas contribuições e, dentro desse contexto, verifica-se que técnicas de manejo das culturas ainda são escassas. As investigações associadas às técnicas culturais com a produção de substâncias de interesse medicinal na planta, podem acrescentar inestimável contribuição na otimização da produção desses produtos em escala comercial, através de um manejo apropriado dos vários fatores e insumos implicados no cultivo das espécies de interesse.

Nesse sentido, a influência dos vários intervenientes edafoclimáticos como radiação, irrigação, adubação e fotoperíodo são aspectos que podem determinar significativos avanços no que se refere à produção vegetal e que visem ao atendimento da indústria de alimentos, de medicamentos, de cosméticos, de borracha natural, dentre outras.

Dentre a riqueza da flora brasileira com potencial terapêutico, a *Bauhinia forficata* Link, vulgarmente conhecida como Pata de Vaca, destaca-se

pelo seu reconhecido efeito hipoglicemiante de uso popular em diversas regiões do país, revelando-se uma alternativa de baixo custo para as populações que a usam em forma de infusos ou tinturas. Além disso, apresenta potencialidades como ornamental e na recuperação de áreas degradadas.

Considerando a importância dos fatores do ambiente, a luz é um componente primordial para o crescimento das plantas, não só por fornecer energia para a fotossíntese, mas também por fornecer sinais que regulam o seu desenvolvimento. Para responder ao estímulo luminoso, as plantas contêm vários receptores de luz que são sensíveis a diferentes intensidades, qualidade espectral e estado de polarização. Dessa forma, modificações nos níveis de luminosidade, aos quais uma espécie está adaptada, condicionam diferentes possibilidades fisiológicas que refletirão nas suas características bioquímicas, anatômicas e de crescimento.

As interações entre os fatores do ambiente físico e a biossíntese de compostos secundários têm, atualmente, recebido atenção especial da ciência, particularmente no que se refere ao fotocontrole de aspectos qualitativos e quantitativos sobre a via dos fenilpropanóides. De maneira geral, o excesso de luz estimula a formação dos flavonóides e outros compostos filtradores de luz ultravioleta (UV), que funcionam na proteção dos fotossistemas contra o excesso de luz visível e protegem o DNA contra os danos da radiação UV. Além dessas importantes atividades fisiológicas na planta, os flavonóides são referenciados em estudos com espécies medicinais, como substâncias altamente ativas, com variados efeitos terapêuticos entre esses anticânceres, antiinflamatórios e hipoglicemiantes, apresentando ainda atividade contra artrite e malária, dentre outras desordens fisiológicas. Dessa forma, pesquisas que investiguem os efeitos da irradiância sobre a síntese dessas substâncias, podem sugerir condições de cultivo que otimizem a sua produção.

Assim, torna-se fundamentalmente importante conhecer os efeitos de diferentes níveis de irradiância sobre a autoecologia de espécies como a *Bauhinia forficata* Link., para uma exploração racional de suas potencialidades.

Tendo em vista a hipótese de um comportamento fisiológico diferenciado nas plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link., em resposta aos níveis de irradiância e às condições sazonais (estações seca e fria e quente e chuvosa), este trabalho teve os seguintes propósitos: avaliar o comportamento fisiológico das plantas; caracterizar os efeitos dos níveis de irradiância sobre os teores de flavonóides totais; obter informações sobre as relações entre aspectos do crescimento; estimar o crescimento e os teores de clorofilas e, ainda, verificar as modificações anatômicas conseqüentes dos níveis de irradiância.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Irradiância e comportamento estomático

Os mecanismos fisiológicos primários que garantem a sobrevivência das plantas exigem o fluxo de  $\text{CO}_2$  e vapor d'água através dos estômatos durante os processos de fotossíntese e transpiração. A exemplo de muitas estruturas vegetais, os estômatos respondem a variados estímulos ambientais que se constituem em um mecanismo de controle das interações da planta com o meio. Entretanto, os resultados dessas interações não são facilmente identificados, uma vez que são complexos os mecanismos de interação entre os diversos fatores endógenos e exógenos.

Considerando o suprimento favorável de água, restam ainda outros fatores ambientais, como luz, temperatura, ventos e déficit de pressão de vapor que exercem efeitos sobre os movimentos estomáticos. Dentre eles, nas condições tropicais com irrigação controlada, aceita-se a intensidade de luz como fator preponderante, uma vez que, em inúmeras espécies, a condutância estomática varia com a luz disponível para otimizar a entrada de  $\text{CO}_2$  e a perda de água nas condições ambientais predominantes (Jarvis e Morison, 1981; Farquhar e Sharkey, 1982).

Não é simples explicar como o sinal luminoso é traduzido em abertura estomática em resposta aos níveis de radiação solar, porque muitos outros fatores externos e internos afetam o comportamento estomático. Contudo, estudos fotobiológicos de estômatos têm mostrado que sua resposta à luz tem dois componentes: um que se refere ao espectro de absorção da clorofila sendo mediado pelos cloroplastos das células guardas e o outro que é associado à



resposta estomática ao azul. É geralmente aceito que a resposta do estômato ao azul é importante em baixa luminosidade e a resposta ao vermelho é particularmente importante em condições de alta intensidade. Esse argumento está baseado na observação de um limiar da ativação do estômato no vermelho, e a carência de um limiar para o azul.

Muitos dos trabalhos que subsidiam essas informações foram derivados de estudos com dois gêneros de orquídeas intimamente relacionados (*Paphiopedilium* e *Phragmipedium*) onde o gênero *Paphiopedilium* carece de cloroplastos nas células guarda, que apresenta uma baixa condutância foliar, e além disso, os estômatos são pouco sensíveis a mudanças nas concentrações de CO<sub>2</sub>. Esses estudos revelaram que, relativamente, baixos níveis de azul (10 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) ativaram a abertura estomática na espécie aclorofilada enquanto o vermelho tem somente um suave efeito sobre essa abertura. Além disso, os resultados foram consistentes com a hipótese de que a luz azul tem um efeito direto sobre a abertura estomática independente das possíveis mudanças nas concentrações de CO<sub>2</sub> que afetam os cloroplastos (Hinckley e Braatne, 1994).

Observando respostas estomáticas e fotossintéticas para sombra em soja e outras plantas anuais, Fay e Knapp (1995) encontraram uma intensa resposta estomática a diferentes níveis de irradiância para soja, em que períodos de sombra causaram fechamento dos estômatos reduzindo o ganho de carbono e a perda de água. Ao avaliar o comportamento estomático em espécies com diferentes características ecológicas (plantas de sombra, plantas de sol de crescimento rápido e plantas de sol de crescimento lento - tolerantes a estresses), Ögren e Sundin (1996) relatam que, as plantas de sombra e as de sol de crescimento lento revelaram uma maior eficiência em utilizar radiação direta e maior habilidade em manter uma rápida resposta estomática para níveis mais elevados de irradiância. Esse fato, segundo os autores, parece estar mais associado à capacidade

fotossintética que às características ecológicas da planta. Barradas, Jones e Clark (1994), avaliando as respostas estomáticas em *Phaseolus vulgaris* L. a diferentes irradiâncias, observaram que, em diferentes faixas de níveis de radiação, ocorreram diferentes respostas estomáticas. Em níveis mais elevados de irradiância, os estômatos necessitaram de um tempo mais longo para alcançar um máximo de abertura estável e, o tempo necessário para atingir o fechamento completo aumentou com a variação no incremento da radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Resultados contrastantes, no entanto, foram encontrados por Kirschbaum, Gross e Pearcy (1988), em uma planta anual, e Tinoco-Ojanguien e Pearcy (1993), com algumas espécies de arbustos de sombra ou estratos inferiores de floresta, nas quais a condutância permanece constante por um longo tempo após a folha ter sido atingida por radiação direta. A condutância máxima foi alcançada por volta de 20 minutos após a RFA retornar ao nível mais baixo. Por outro lado, em *Phaseolus vulgaris* L., a fase de fechamento parece sempre iniciar com a redução da irradiância.

Eckstein e Robinson (1995), avaliando a influência das condições climáticas sobre variações sazonais e diurnas nas trocas gasosas em folhas de banana em região subtropical, encontraram valores elevados para condutância durante as manhãs dos meses de verão, enquanto os menores valores foram encontrados no inverno, após uma noite com baixa temperatura e, picos diurnos de fotossíntese e condutância ocorrendo quase sempre antes do meio-dia. Relatam ainda que, durante o verão, as restrições sobre as trocas gasosas foram devidas as altas temperaturas e altos déficits de pressão de vapor (DPV). Efeito de baixa temperatura noturna, causando uma queda brusca na condutância, também é relatado por Siebeneichler et al. (1998), estudando duas cultivares de feijão. Huc, Ferhi e Guehl (1994), investigando a regulação de trocas gasosas em espécies pioneiras e não pioneiras de floresta tropical úmida, durante a transição

da estação úmida para a seca, observaram que, o aspecto que mais distinguiu os dois grupos de plantas foi um acentuado declínio na condutância estomática e um aumento na razão assimilação/condutância, para as plantas pioneiras entre o final da estação das chuvas e o meio da estação seca.

## 2.2 Irradiância e eficiência do fotossistema II

Durante o processo fotossintético, quando os pigmentos absorvem luz, os elétrons atingem um maior nível energético e, nesse estado, a energia poderá ser convertida em calor, poderá ser capturada numa ligação química ou, ainda, ser emitida sob a forma de fluorescência. A fluorescência emitida pela clorofila *a* durante o processo de absorção de luz está associada ao fotossistema II (FSII).

Os centros de reação do FSII em plantas superiores são suscetíveis a danos fotoinibitórios nas moléculas de seus pigmentos e proteínas, sob prolongada exposição à luz na presença de oxigênio. As plantas superiores, têm uma capacidade limitada de evitar tais danos através da dissipação, como calor, do excesso de energia luminosa absorvida pelos pigmentos antena do FSII. O mais importante mecanismo protetor para dissipação de calor, induzido em condições de excesso de luz, inclui um efeito de ajuste do gradiente de pH transtilacóide e interconversões de pigmentos carotenóides no ciclo da xantofila. Coincidentemente, o mecanismo fotoprotetor e o fotoinibitório do FSII reduzem o dano à clorofila *a* no FSII produzindo fluorescência (Gilmore et al., 1996).

A eficiência fotoquímica do FSII ( $F_v/F_m$ ) na extensão de 0,75-0,85 para plantas não estressadas (Bolhard-Nordenkampf et al., 1989) está altamente correlacionada com o rendimento quântico da fotossíntese líquida de folhas intactas com vários níveis de fotoinibição. Um declínio na razão  $F_v/F_m$  é um bom

indicador do dano fotoinibitório quando plantas são submetidas a uma ampla extensão de estresses ambientais (Ögren e Öquist, 1985).

Mudanças diurnas na fluorescência da clorofila *a*, características de folhas de sol e sombra de algumas espécies de árvores tropicais e temperadas foram investigadas por Joshi (1995). Em plantas, crescendo sob condições de campo em dias ensolarados e dias nublados durante o verão, verificou-se uma significativa redução na eficiência fotossintética do FSII medidas como razão  $F_v/F_m$  durante períodos de máxima irradiância em folhas expostas ao sol.

Groninger et al. (1996) avaliando a resposta fotossintética para sombra em um grupo de plantas jovens de quatro espécies florestais consituído por espécies tolerantes, de tolerância intermediária e intolerantes em relação à sombra, demonstraram que as características fotossintéticas como a eficiência do FSII, ponto de compensação de luz e respiração no escuro geralmente não foram afetados pelos tratamentos de sombra. Enquanto He, Chee e Goh (1996) investigando fotoinibição em três espécies de *Heliconia* sob condições tropicais, observaram que a eficiência fotossintética do fotossistema II, dada pela razão entre fluorescência variável e fluorescência máxima ( $F_v/F_m$ ), foi maior nas folhas inferiores (mais sombreadas  $\cong 0,80$ ) e menor nas folhas superiores expostas ao sol (0,62 a 0,72).

### 2.3 Irradiância e crescimento

O crescimento é controlado pelo potencial genético dos organismos, o qual opera através de seus processos fisiológicos e pelo ambiente em que o organismo cresce. Nas plantas, fatores ambientais como luz, água, temperatura, minerais, gases atmosféricos, ventos, efeito alelopático de outras plantas e a

presença de animais e ainda os tratos culturais impostos pelo homem, determinam a forma como as potencialidades genéticas são expressas.

As plantas superiores respondem de maneira específica aos estímulos luminosos em relação a alguns eventos bioquímicos e fisiológicos, tais como a fotossíntese, o acúmulo de matéria seca e o crescimento da planta como um todo. Efeitos da intensidade de luz sobre o crescimento foram acompanhados por Jones e Mcleod (1990) ao submeterem uma espécie invasora capaz de se desenvolver em ambientes de sombra ou a pleno sol (*Sapium sebiferum* [L.] Roxb.) e uma espécie nativa (*Fraxinus caroliniana*) relativamente tolerante à sombra, a quatro níveis de luz: 5, 20, 53 e 100%. Os resultados indicaram que as espécies respondem de formas diferentes aos níveis de luz quanto ao acúmulo de matéria seca e que em *S. sebiferum* foi máxima em 100% de luz, enquanto para *Fraxinus caroliniana*, a máxima acumulação ocorreu em 53% de luz. Também Ferreira et al. (1977), em estudo para determinar o melhor nível de sombreamento para a produção de mudas e o desenvolvimento inicial no campo de espécies florestais, observaram que as espécies responderam de formas diferentes, onde algumas apresentaram melhor desempenho quando expostas a pleno sol, enquanto outras, se desenvolveram melhor quando sombreadas.

Alguns estudos com espécies lenhosas indicam que, mesmo aquelas que na fase adulta são essencialmente heliófilas, apresentam um crescimento insatisfatório quando plantadas a pleno sol, além de apresentarem outros problemas de natureza fisiológica. Tal comportamento foi observado por Gomes et al. (1979) submetendo mudas de eucalipto a três níveis de sombra (0, 30 e 60%), nos quais não foram observadas influências dos níveis de sombra sobre o crescimento em altura e tampouco na matéria seca. Esses autores relatam, contudo, uma tendência para maior crescimento com 30% de sombra, enquanto a

matéria seca mostrou uma tendência ao decréscimo com o aumento do sombreamento.

Inoue, Galvão e Torres (1979) estudando o efeito de quatro níveis de luz em *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. KTZE encontraram baixo desempenho fotossintético das plântulas a pleno sol com reflexos negativos no seu desenvolvimento. Os autores consideraram as condições de pleno sol incompatíveis, pelo menos na fase juvenil do pinheiro, com relação as suas características de capacidade e produção fotossintética. Scalon e Alvarenga (1993) não observaram efeito significativo do sombreamento sobre o desenvolvimento de mudas de pau-pereira, embora, tenha havido uma ligeira tendência de incremento no desenvolvimento daquelas mudas que se encontravam sombreadas. Naves (1993), avaliando o efeito de quatro níveis de radiação sobre três espécies florestais, observou na espécie heliófila um desenvolvimento mais favorável a pleno sol, inclusive com maior acúmulo de matéria seca em relação às espécies mais tolerantes à sombra em todos os níveis.

Ainda, Castro, Alvarenga e Gomide (1996), em pesquisa sobre crescimento e distribuição de matéria seca de mudas de calabura (*Muntingia calabura* L.), submetidas a três níveis de irradiância, observaram que os níveis de sombreamento estudados (67 e 48% de luz solar), proporcionaram melhor desenvolvimento das mudas em relação à condição de pleno sol, uma vez que as mesmas apresentaram maior acúmulo de matéria seca total, maiores valores de diâmetro do caule, altura e área foliar, ainda que as maiores taxas de assimilação e distribuição de matéria seca para as raízes tenham sido encontradas em plantas cultivadas a pleno sol.

## 2.4 Irradiância e teores de clorofila

O crescimento e a adaptação da planta a ambientes variados relaciona-se à sua eficiência fotossintética que, por sua vez, depende, dentre outros fatores, dos teores de clorofila presentes na folha. A síntese e a degradação das clorofilas estão sob o efeito direto da intensidade de luz, sendo que a velocidade de decomposição é maior sob elevada radiação luminosa, então o equilíbrio é estabelecido a uma concentração mais baixa.

O efeito do sombreamento sobre o teor de clorofilas em folhas de kiwi, em condições de campo, foi investigado por Chartzoulakis, Therios e Noitsakis (1995). Os teores de clorofilas foram quase três vezes maiores em folhas sombreadas em relação àquelas expostas ao sol, quando expressos com base na matéria seca. No entanto, as folhas de sol apresentaram uma razão clorofila *a/b* significativamente maior; resultados esses que estão de acordo com os encontrados por Johnson, Nell e Rosenbaum (1982); Sarracino, Merrit e Chin (1992) e Lei e Lechowicz (1998). Contudo, alguns autores não encontraram diferenças entre essas proporções (Inoue, 1983; Graça, 1983; Nygren e Kellomaki 1983/1984; Kappel e Flore, 1983). Boardman (1977) relata que folhas crescendo sob baixa radiação fotossinteticamente ativa apresentam maior teor de clorofila por unidade de massa de matéria seca, todavia, afirma que o teor por unidade de área foliar é frequentemente maior em folhas expostas a níveis mais elevados de radiação. No entanto, He, Chee e Goh (1996), em estudo com *Heliconia* observaram que, quando as plantas cresceram sob alta irradiância, exibiram baixa concentração de clorofila por área foliar em relação às plantas que cresceram sob sombra intermediária e intensa.

Também Engel e Poggiani (1991), estudando a concentração de clorofila e seu espectro de absorção de luz em quatro espécies florestais nativas



submetidas a quatro níveis de sombreamento (0, 41, 68 e 82%) observaram que o teor de clorofila nas folhas correlacionou-se positivamente com o nível de sombra em todas as espécies, sendo esta correlação mais elevada para clorofila *b*, enquanto a razão entre clorofila *a/b* correlacionou-se negativamente com o sombreamento em duas das espécies estudadas. Resultados semelhantes são relatados por Thornber (1975); Boardman (1977); Tinoco e Vasquez-Yanes (1985); Lee (1988) e Naves (1993).

## 2.5 Compostos Secundários

Os sistemas vivos dependem de processos bioquímicos complexos que caracterizam o metabolismo. Durante o metabolismo, uma série de compostos são sintetizados e degradados através de reações mediadas por enzimas. Aqueles processos comuns a todos os vegetais pelos quais são sintetizados e utilizados açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos e os polímeros derivados (polissacarídeos, proteínas, lipídios, RNA e DNA) constituem o metabolismo primário, executados por vias comuns a todos os vegetais. Outras vias são, no entanto, utilizadas na produção de compostos que, de forma geral, não parecem ter uma função direta no crescimento e desenvolvimento, sendo, portanto, os seus produtos denominados compostos secundários ou metabólitos secundários. Assim, pensava-se até recentemente que os compostos secundários não tinham um papel reconhecido em processos de assimilação, respiração, transporte e diferenciação. No entanto, atualmente já se conhece a interrelação entre os metabólitos primários e secundários e as diversas funções desempenhadas pelos produtos secundários como hormônios, pigmentos fotossintéticos, transportadores de elétrons e componentes estruturais de membrana, dentre outras.

Os produtos secundários podem ser divididos em três grupos principais de acordo com a sua rota biossintética: terpenos ou terpenóides, compostos fenólicos (lignina, flavonóides, isoflavonóides, taninos.) e compostos contendo nitrogênio (alcalóides, glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, dentre outros). Vários desses produtos constituem princípios ativos que são matérias-primas utilizadas na indústria farmacêutica, de cosméticos e na agroindústria visando à produção de herbicidas. Os metabólitos secundários podem estar presentes em diferentes órgãos vegetais e em concentrações que podem variar em função de diferentes fatores internos ou externos à planta, como o estágio de desenvolvimento e condições ambientais.

### 2.5.1 Flavonóides - metabólitos da rota chiquimato

Os flavonóides constituem uma das maiores classes de compostos fenólicos. O esqueleto básico dos flavonóides (Figura 1) contém 15 carbonos em um arranjo com dois anéis aromáticos (A e B) oriundos de duas vias biossintéticas, conectados por uma cadeia de três carbonos aberta ou fechada (anel C). O anel B provém da via do ácido chiquímico, através da fenilalanina e o anel A se origina de três unidades de acetato na via do ácido malônico.

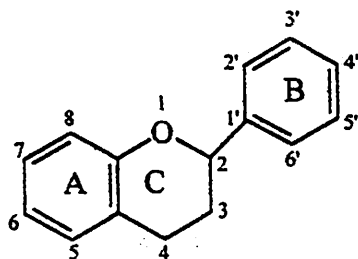


FIGURA 1. Esqueleto básico de flavonóides (Cook e Samman, 1996)

Os flavonóides atraem a atenção de pesquisadores por suas potencialidades medicinais, especialmente aquelas relacionadas a propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, antialérgicas, mutagênicas, carcinogênicas, anticarcinogênicas, citotóxicas, antineoplásicas e hipoglicemiantes (Khosa, Pandey e Singh 1983; Hukeri, Kalyani e Kakrani, 1988; Alcaraz e Jiménez, 1988; Stafford, 1990; Pathak, Pathak e Singla, 1991; Clemente Filha, 1996).

A suposição de que em *Bauhinia forficata* a ação hipoglicemiante é devida a um flavonóide, é subsidiada por trabalhos como o de Khosa, Pandey e Singh (1983) com *Zizyphus rugosa* que apresentou efeitos hipoglicemiantes em ratos, associados à presença de canferol-3-O-ramnosídeo. Segundo Clemente Filha (1996), a presença desses glicosídeos de canferol em folhas de *Bauhinia forficata* parece estar associada à sua atividade antidiabética. Também Iribarren e Pomilio (1983) associam os efeitos hipoglicêmicos e hipocolesterêmicos de *Bauhinia candicans* a dois flavonóides encontrados nos extratos de suas folhas e flores.

Benavente-Garcia et al. (1997) afirmam que em citrus a capacidade antioxidante dos flavonóides os possibilita a agir como anticânceres, antivirais, antiinflamatórios e exercerem efeitos sobre a fragilidade dos capilares e uma habilidade em inibir a agregação de plaquetas em humanos.

Outras funções têm sido atribuídas para os flavonóides na planta, dentre elas, estão suas contribuições para as cores de flores e frutos que desempenham uma importante função ecológica na atração de animais para polinização e dispersão de sementes. Funcionam, também, como substâncias filtradoras, uma vez que fenólicos podem acumular-se como resultado de estresses por alta luminosidade e há, nesse sentido, fortes evidências que danos ao DNA por radiação ultravioleta (UV) levam a acumulação de flavonóides e outros fenólicos

absorvedores de luz UV, principalmente em tecidos dérmicos da planta (Stapleton e Walbot, 1994; Dey e Harbone, 1997).

Na natureza, a UV-B ocorre em baixas intensidades, mas poderá ser esperado um aumento, se a camada de ozônio estratosférica sofrer um prejuízo significativo, como consequência da emissão de óxidos de nitrogênio e hidrocarbonetos halogenados (Larcher, 1995). Os efeitos dessa radiação causam danos ao DNA (Quaite e Sutherland, 1992), ao FSII (Middleton e Teramura, 1993), redução no crescimento da planta, na produção de grãos e na fotossíntese (Tevini e Teramura, 1989), alterações na morfologia e alocação de biomassa, reduzindo o peso da planta e a área foliar e afetando o número de folhas e ramos (Barnes, Flint e Caldwell 1990). A importância biológica dos flavonóides, como compostos protetores contra os danos da radiação UV, é sugerida nos trabalhos de diversos autores desde Shibata (1915), citado por Takahashi, Takeda e Ohnishi (1991); até estudos mais recentes, entre esses McClure (1975); Caldwell, Robberecht e Flint (1983) e Stafford (1990).

Diferentes estádios de desenvolvimento (vegetativo e reprodutivo) podem caracterizar diferenças no conteúdo de um determinado metabólito. Experimentos realizados com duas espécies do gênero *Ocimum* por Jogia (1984) revelaram variações na composição do óleo essencial durante o período de floração, em que o conteúdo de cariofileno foi elevado e de metil eugenol foi baixo em *Ocimum sanctum*, enquanto que *Ocimum basilicum* apresentou altos níveis de metil cinamato e pouco linalol.

Em estudos sobre a influência da variação sazonal na composição do óleo essencial em *Salvia officinalis* realizados por Pitarevic et al. (1984), constatou-se que a produção e composição do óleo variou mês a mês, atingindo o máximo durante o mês de julho. Entretanto, para se obter um óleo essencial de melhor

qualidade, isto é, com a máxima porcentagem de tujona, recomenda-se a colheita das folhas durante o mês de outubro.

## 2.6 Irradiância e características anatômicas de folhas

As folhas respondem, como principais órgãos fotossintetizadores, de forma específica às condições de luminosidade através de modificações anatômicas que podem ser caracterizadas pelo tamanho e espessura das células epidérmicas, índice estomático, número de tricomas, estrutura dos parênquimas paliçádicos e lacunosos.

As características das folhas de sombra, quanto as suas propriedades anatômicas e fisiológicas, possibilitam a utilização eficiente de menores intensidades de luz, sendo que, folhas de sombra não têm condições de usar de forma eficiente a luz sob alta intensidade, devido aos processos foto-oxidativos que podem destruir os plastídeos (Coombs e Hall, 1982).

Segundo Boardman (1977), folhas de sombra são geralmente mais delgadas e extensas que folhas de sol. Inúmeros autores têm constatado que níveis elevados de luz causam um maior desenvolvimento dos parênquimas paliçádicos e lacunosos resultando em folhas mais grossas (Björkman e Hölmgren, 1963; Bowes, Ögren e Hageman, 1972; Crookston et al., 1975). Nobel, Zaragoza e Smith (1975) avaliando os efeitos da intensidade de luz durante o crescimento da área superficial das células do mesófilo por unidade de área foliar ( $A^{mes}/A$ ) em folhas de *Plectranthus parviflorus* Henkel., observaram que quando a intensidade de luz foi aumentada de 900 para 42000 lux, as folhas triplicaram em espessura e a razão  $A^{mes}/A$  aumentou quase cinco vezes, devido ao aumento no número e área das células do mesófilo.

Pesquisas com *Phaseolus vulgaris* mostraram que reduções na intensidade luminosa provocaram aumento da superfície foliar causado por divisões celulares (Verbelen e Greef, 1979; Dengler, 1980) e expansão celular (Knecht e O'Leary, 1972).

Também o número de estômatos pode ser afetado pelas condições de luminosidade do ambiente, sendo essas estruturas encarregadas das trocas gasosas entre a planta e o meio, o aumento da frequência estomática em folhas expostas a elevadas luminosidades pode ser um mecanismo importante de adaptação a condições mais áridas (Medri e Lheras, 1980; Abrams, 1987). Segundo Boardman (1977), o aumento da frequência de estômatos geralmente está correlacionada com a maior condutância estomática e, portanto, com uma menor resistência à difusão de gases. Para Kozlowski, Kramer e Pallardy (1991), contudo, a capacidade de resposta dos estômatos às variáveis ambientais são mais importantes para determinação da condutância estomática do que o seu número.

Embora numerosos trabalhos encontrem uma correlação positiva entre a intensidade luminosa e a densidade estomática, em alguns casos foi observado que o número de estômatos por folha continua praticamente constante para diferentes níveis de luz (Knecht e O'Leary, 1972; Peterson, Durkin e Sacales 1986). Em soja, Buttery et al. (1992) observaram que maiores concentrações do flavonóide K9 (Kaempferol triglicosídeo) foram associadas com a redução no número de estômatos por unidade de área, principalmente sobre a superfície superior da folha. Os autores, ao submeterem a variedade de soja que continha o flavonóide K9 à sombra, constataram dois efeitos opostos sobre a densidade estomática: um efeito direto em que a sombra reduz o número de estômatos e um efeito indireto em que uma diminuição no conteúdo de K9 permitiu um aumento na densidade de estômatos. Assim, o efeito líquido da sombra sobre a variedade contendo K9, sugeriu ser a manutenção de uma densidade estomática constante.

As informações encontradas nas literaturas citadas ressaltam os efeitos da luz sobre o crescimento e síntese de compostos como clorofilas e flavonóides nas plantas, subsidiando investigações que possam indicar a influência desse fator do ambiente sobre as condições de cultivo de espécies ainda pouco estudadas como a *Bauhinia forficata* Link que, entretanto, é largamente explorada pela população por suas características medicinais.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Considerações gerais

O estudo foi conduzido de novembro de 1997 a novembro de 1998, em viveiro e em espaço aberto do Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, localizado na região sul do Estado de Minas Gerais, a 918 m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW. A média anual de temperatura do ar é de 19,4°C e as médias anuais de temperatura do ar máxima e mínima são, respectivamente, de 26,1°C e 14,8°C, sendo a precipitação total anual de 1529,7 mm (Brasil, 1992). Segundo a classificação de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, com características de Cwb, apresentando duas estações definidas: seca, de abril a setembro, e chuvosa, de outubro a março.

A espécie estudada, *Bauhinia forficata* Link, pertence à família Caesalpiniaceae, cujas sinonímias botânicas são: *Bauhinia aculeata* Vell / *Bauhinia brasiliensis* Vog. É uma planta arbórea, decídua ou semidecídua, heliófila, característica da floresta pluvial Atlântica. Possui espinhos, apresentando uma altura de 5-9 m, tronco tortuoso de 30-40 cm de diâmetro, folhas glabras ou levemente pubescente na face dorsal, divididas até acima do meio, com comprimento de 8-12 cm, acúleos quase sempre gêmeos. Essa espécie ocorre, preferencialmente, em planícies aluviais úmidas ou em início de encostas, quase sempre em formações secundárias, como capoeiras. É rara sua ocorrência no interior de mata densa primária. Por ser uma planta pioneira de crescimento rápido, é recomendada como alternativa em plantios mistos na recuperação de áreas degradadas (Lorenzi, 1992).

### 3.2 Condições experimentais

As sementes utilizadas para obtenção das mudas foram coletadas, em outubro de 1997, de plantas adultas que se encontram no município de Ijaci-MG, situado a aproximadamente 10 km de Lavras. Em novembro de 1997, três sementes foram distribuídas em cada coluna de PVC com 0,50 m de altura por 0,15 m de diâmetro, contendo 12 kg de substrato composto por solo de barranco e areia na proporção de 2:1, previamente analisado no Laboratório de Solos da UFLA (Tabela 1). A partir dessa análise, foram incorporados ao substrato superfosfato simples na dosagem de 5 kg/m<sup>3</sup> e cloreto de potássio na dosagem de 2,5 kg/m<sup>3</sup>. As mudas permaneceram em viveiro com nível de 70% de irradiância durante um período de cinco meses até atingirem uma altura média de 30 cm, quando, então, os tratamentos referentes aos níveis de irradiância foram implantados (100% ou pleno sol, 70% e 50%). Os níveis de 70% e 50% foram obtidos com a utilização de telas pretas de nylon, conhecidas comercialmente como "telas sombrite", conforme especificações do fabricante, que permitem a redução de 30 e 50% da radiação fotosinteticamente ativa.

Durante o período experimental (maio a novembro/98), foram realizadas duas adubações complementares, sendo a primeira constituída de sulfato de amônio na base de 0,16 g/Kg de substrato e, ainda, adubação foliar de sulfato ferroso amoniacal em concentração 0,5 g/l. Na segunda adubação, além do sulfato de amônio, foi aplicada uma solução de sulfato de magnésio na concentração de 1g/l com amônio fosfato monobásico em concentração de 0,2 g/l.

Foram realizadas avaliações a cada duas semanas no período de maio a outubro, constituindo um período característico de temperaturas baixas e pouca precipitação que designamos época seca e, um período de temperaturas mais elevadas e maior precipitação que designamos época úmida. O período

experimental foi caracterizado por condições de temperaturas máximas e mínimas, e horas de insolação dentro das normais climatológicas da região (Brasil, 1992), entretanto, as condições de precipitação total (mm), nos meses de junho e julho, foram bem inferiores às normais para o período (Tabela 2).

TABELA 1. Análise do substrato utilizado no cultivo das plantas. UFLA, 1998.

pH	6,2	H+Al	2,6 meq/100cc	Carbono	0,7 %
P	15 ppm	S	2,5 meq/100cc	Mat. Orgânica	1,3 %
K	37 ppm	t	2,5 meq/100cc	Areia	54 %
Ca	1,7 meq/100cc	T	5,1 meq/100cc	Limo	13 %
Mg	0,7 meq/100cc	m	0 %	Argila	33 %
Al	0,0 meq/100cc	V	49 %	Boro	0,58 ppm

- Departamento de Ciência do Solo, UFLA (1998).

TABELA 2. Temperatura mínima e máxima, precipitação total e insolação total verificadas durante o período experimental (maio/98 a novembro/98).

Mês	Temperatura (°C)		Precipitação Total (mm)	Insolação Total (h)
	Máxima	Mínima		
Maio	24,9 (24,7)	13,0 (12,7)	73,7 (40,6)	193,2 (222,2)
Junho	23,0 (23,9)	11,3 (11,1)	0,4 (27,9)	191,0 (219,5)
Julho	25,1 (23,7)	10,9 (10,4)	0,0 (23,4)	252,7 (245,3)
Agosto	27,3 (25,7)	14,2 (11,7)	51,3 (24,8)	220,4 (247,6)
Setembro	28,9 (25,4)	15,5 (13,6)	16,5 (72,5)	219,1 (202,6)
Outubro	26,3 (27,2)	16,1 (15,6)	200,7 (126,0)	156,3 (198,6)
Novembro	27,1 (27,2)	16,6 (16,6)	166,8 (213,0)	175,7 (181,0)

- Os números entre parêntesis representam as normais climatológicas 1965-1990 Brasil (1992)



### 3.3 Características fisiológicas

- **Comportamento estomático**

Durante o período experimental, foram avaliadas, a cada duas semanas, as seguintes características associadas ao comportamento estomático: condutância estomática (gs), radiação fotossinteticamente ativa (RFA), transpiração (E), temperatura foliar, temperatura da cubeta e umidade relativa (UR) da cubeta, utilizando-se um porômetro portátil (Steady State Porometer - modelo LI-1600M). As informações de temperatura da cubeta e UR foram utilizadas para determinação de déficit de pressão de vapor (DPV). Foi também avaliado o potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), utilizando-se a câmara de pressão (Soil Moisture - modelo 3005).

As avaliações com o porômetro foram realizadas entre 11:00 e 12:00 horas (horário de maior demanda atmosférica). Essas avaliações foram realizadas sempre na face abaxial das folhas, na qual, nessa espécie, concentra-se um maior número de estômatos em relação à face adaxial. Foram escolhidas folhas completamente expandidas e com a mesma orientação cardeal em relação à luz solar incidente.

O potencial hídrico foi determinado antes do amanhecer ( $\Psi_w$  máximo) e ao meio-dia solar ( $\Psi_w$  mínimo), utilizando-se uma folha por repetição. As folhas utilizadas para medição do potencial hídrico ao meio-dia solar foram as mesmas empregadas na leitura de condutância estomática.

- **Eficiência do fotossistema II (FSII)**

A eficiência fotoquímica do FSII foi avaliada por meio de um fluorômetro portátil (Plant Efficiency Analyser - PEA da HANSATECH INSTRUMENTS Ltd.).

A eficiência fotoquímica do FSII (razão  $F_v/F_m$ , sendo  $F_v = F_m - F_0$  onde  $F_m$  = Fluorescência máxima;  $F_v$  = Fluorescência variável e  $F_0$  = Fluorescência mínima), foi determinada após as folhas serem pré-condicionadas ao escuro por 30 minutos, pela medição da fluorescência rápida “in vivo”.

As características de comportamento estomático e eficiência fotoquímica do FSII foram avaliadas em quatro plantas por tratamento, utilizando-se uma folha por planta.

- **Crescimento**

Para avaliar o crescimento, foram estudadas as seguintes características: comprimento e diâmetro do caule, matéria seca da parte aérea, matéria seca de raízes e área foliar específica (AFE), em oito plantas de cada tratamento.

As variáveis, comprimento e diâmetro do caule, foram medidas em intervalos de 15 dias a partir de maio até novembro. O comprimento do caule foi considerado desde o colo até a região de inserção das folhas apicais, caracterizada pelo nó correspondente à última folha em ontogenia (Benincasa 1988); e o diâmetro tomado a 3 cm do solo.

No final do experimento, as plantas foram separadas em folhas, caule e raízes, sendo as raízes lavadas em água corrente. Após contagem das folhas e medidas de dez folhas por repetição em cada tratamento, além de contornos

foliares, através de fotocópia, de nove folhas por tratamento para efetuar a estimativa da área foliar (Benincasa 1988), todo o material foi acondicionado em sacos de papel e colocados em estufa com circulação forçada de ar, a aproximadamente 70°C, durante 72 horas. Após a secagem, o material foi pesado para quantificar a distribuição de biomassa.

A determinação da área foliar foi feita através do método da figura geométrica (retângulo) para medida da área estimada, e o método da fotocópia para medida da área real. A partir dos valores médios da área real e da área estimada, foi calculado o fator de correção para cada tratamento ( $F_c = A_{real}/A_{estimada}$ ).

- **Teor de clorofilas**

A extração e estimativas das clorofilas seguiu o método clássico de Arnon (1949), citado por Passos (1996).

Foram retirados discos de 1,4 cm de diâmetro de folhas totalmente expandidas, coletadas do terço superior das plantas e determinados os pesos médios de matéria fresca dos discos foliares por tratamento nas duas épocas de coleta.

Para extração, dois discos de dez folhas por tratamento foram macerados com 2 ou 3 ml de acetona 80% em almofariz. Em seguida, os extratos foram transferidos para tubos de centrífuga e adicionados mais 4 ou 5 ml de acetona 80%. Os extratos foram centrifugados a 2500 rpm durante 5 a 10 min e o sobrenadante foi filtrado em papel Whatman nº1. Seguiu-se leitura das absorbâncias a 663 nm para clorofila *a* e 645 nm para clorofila *b*.

Os cálculos de mg de clorofila/g de matéria fresca de tecido foliar foram realizados utilizando-se as equações 1 e 2:

$$\text{Clorofila } a = (12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times \quad (1)$$

$$\text{Clorofila } b = (22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \times \quad (2)$$

onde,

A: absorvância no comprimento de onda determinado;

V: volume final do extrato clorofila - acetona;

W: matéria fresca em gramas do material vegetal utilizado.

A estimativa da clorofila total foi feita a partir da soma de (1) e (2).

### 3.4 Teor de flavonóides totais

Para avaliação de flavonóides totais foram coletadas folhas totalmente expandidas da região mediana da planta em dez indivíduos por tratamento nas duas épocas em estudo. Também foram realizadas avaliações dos teores de flavonóides totais em duas árvores adultas de *Bauhinia forficata* do município de Ijaci - MG, nas épocas seca e úmida em três amostras por época.

A dosagem de flavonóides foi feita de acordo com Rio (1996) modificado, citado por Santos e Blatt (1998), onde se utilizou rutina como padrão, em solução de cloreto de alumínio. Dois gramas de folhas secas e moídas foram extraídas com 150 ml de metanol (MeOH) 70% em Soxhlet por três horas, o extrato foi filtrado e o volume completado para 250 ml. Uma alíquota de 15 ml foi colocada em balão volumétrico acrescida de 1 ml de solução de cloreto de alumínio (5 g de cloreto de alumínio em 100 ml de MeOH, segundo Markham (1982) citado por Santos e Blatt (1988), sendo o volume completado para 50 ml. Após repouso de 30 min foi feita leitura a 425 nm em espectrofotômetro UV/visível para se obter a concentração de flavonóides ( $\mu\text{g/ml}$ ). A análise foi

realizada em triplicata. Os dados de absorvância das amostras foram comparados com uma curva padrão construída a partir de soluções com concentrações crescentes de rutina, cuja solução padrão foi preparada com MeOH 70% numa concentração de 100µg/ml. Aliquotas de 2,0 a 6,0ml, com intervalos de 0,5 ml foram utilizadas para confecção da curva padrão, acrescidas de 1,0 ml de cloreto de alumínio e o volume completado para 50 ml com MeOH 70%. Os teores de flavonóides totais foram expressos em percentagem por grama de matéria seca.

### 3. 5 Características anatômicas

A estrutura anatômica das folhas foi estudada em cada tratamento a partir da observação de cinco folhas totalmente expandidas, retiradas do terço superior de cinco plantas tomadas ao acaso, fixadas em formaldeído, ácido acético e álcool etílico (F.A.A.) 70%, e conservadas em álcool etílico 70° GL segundo Johansen (1940).

Para as avaliações relativas ao número médio de estômatos por mm<sup>2</sup>, diâmetro polar e equatorial (epiderme da face abaxial) e número de células (epiderme da face adaxial), foram realizados cortes paradérmicos manuais utilizando-se uma lâmina "Gillete". Os cortes foram realizados nas regiões basal, mediana e apical das folhas, colocados sobre uma lâmina com safranina + água glicerinada, e observados com o auxílio de câmara clara, em microscópio Olympus CBB, segundo a técnica de Labouriau, Oliveira e Salgado-Labouriau (1961). As observações foram realizadas em quatro campos por região da folha, totalizando 120 campos por tratamento.

No preparo das lâminas permanentes para a observação, secção transversal das folhas, foram utilizadas técnicas usuais de inclusão em parafina



após desidratação em série alcoólica etílica, segundo Johansen (1940) e Sass (1951).

Os cortes transversais da lâmina foliar foram efetuados com o auxílio de micrótomo rotatório e submetidos ao processo de dupla coloração com safranina - azul de astra na proporção de 7:3, segundo Bukatsh (1972).

### **3. 6 Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso (DIC) para as características que foram avaliadas apenas no final do experimento: matéria seca de raízes, caules e folhas. As características de crescimento (altura de plantas e diâmetro do caule), condutância estomática (gs), déficit de pressão de vapor (DPV), radiação fotossinteticamente ativa (RFA), a eficiência fotoquímica do FSII ( $F_v/F_m$ ), teores de clorofilas e teores de flavonóides totais, foram analisados em DIC com parcelas subdivididas no tempo, sendo os níveis de luz dispostos nas parcelas e as épocas nas subparcelas. Os dados da anatomia foliar foram analisados em DIC com subparcelas em faixas, sendo os níveis de luz dispostos nas parcelas e as regiões das folhas nas subparcelas. As faixas foram formadas pelas regiões ápice, meio e base de cada folha analisada.

O programa MSTAT da Michigan University (EUA) foi utilizado para realização das análises de variância.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Características fisiológicas

A Tabela 3 apresenta as condições microclimáticas que caracterizaram o período experimental, em que evidenciam-se dois períodos distintos em termos de demanda atmosférica. Para a época seca, têm-se valores de DPV abaixo de 2,0 kPa para todos os tratamentos e, maior que 2,0 kPa para os níveis de 100 e 70% de irradiância na época úmida. A RFA é, notadamente, mais elevada 26%, em média, na época úmida. Como pode-se observar na Figura 2, os estômatos responderam com uma maior condutância na época úmida, apesar de uma maior demanda atmosférica. A maior disponibilidade de RFA, ao que parece, permitiu às plantas, sob os níveis de 100 e 70%, condutâncias quatro vezes maiores em relação à época seca, enquanto o nível de 50% teve sua condutância aumentada, praticamente, sete vezes, não apresentando entretanto diferenças significativas (Tabela 4).

TABELA 3. DPV e RFA de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link., submetidas a três níveis de irradiância em duas épocas do ano.

Níveis de irradiância/ Épocas	DPV (kPa)			RFA ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )		
	Seca	Úmida	Média	Seca	Úmida	Média
100%	1,71aA	2,80aA	2,26a	1422aB	1776aA	1599a
70%	1,58aA	2,39aA	1,99a	816bB	1147bA	982b
50%	1,38aA	1,94aA	1,66a	559bB	852bA	705b
Média	1,56B	2,38A	-	932,5B	1258A	-

- Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

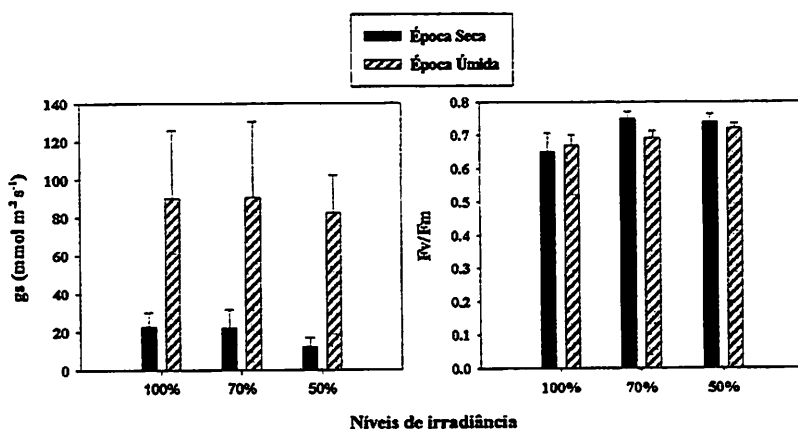


FIGURA 2. Médias sazonais da condutância estomática ( $g_s$ ) e razão  $F_v/F_m$  de quatro plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. em cada tratamento. O erro padrão está indicado nas barras verticais.

TABELA 4. Condutância estomática (gs) e razão  $F_v/F_m$  de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância em duas épocas do ano.

Níveis de irradiância/ Épocas	Gs ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )			$F_v/F_m$		
	Seca	Úmida	Média	Seca	Úmida	Média
100%	22,5aA	90,4aA	56,4a	0,65aA	0,67aA	0,66b
70%	21,9aA	90,6aA	56,3a	0,75aA	0,69aA	0,72a
50%	12,2aA	82,6aA	47,4a	0,74aA	0,72aA	0,73a
Média	18,85B	87,87A	-	0,71A	0,69 <sup>A</sup>	-

- Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A maior condutância na época úmida está associada ao melhor desenvolvimento das plantas nessa época. Resultados semelhantes sob variações sazonais foram observados por Huc, Ferhi e Guehl (1994) e Eckstein e Robinson (1995).

Observam-se, também, na Figura 2, os resultados obtidos para a eficiência fotoquímica do FSII que foi menor no nível de 100% de irradiância (Tabela 4), com valor médio de 0,66 contra 0,72 do nível de 70% e 0,73 do nível de 50%. Esses resultados foram decorrentes, provavelmente, das condições de excesso de luz, o que levou a uma redução na eficiência de transferência da energia, da qual grande parte capturada é dissipada para a própria proteção dos fotossistemas, na forma de calor ou emissão de fluorescência da clorofila *a* (Krause, 1988; Krause e Weis, 1991). A análise de variância da razão  $F_v/F_m$  revelou que houve diferenças entre os níveis de irradiância, sem contudo evidenciá-las entre as épocas, o que acarretou a não observância de interação entre os níveis de irradiância e épocas. Redução na eficiência fotoquímica em folhas expostas à elevada luminosidade foram também observadas por He, Chee e

Goh (1996), em que folhas mais expostas à luz tiveram seus valores de  $F_v/F_m$  variando entre 0,62 e 0,72, enquanto as folhas sombreadas alcançaram aproximadamente 0,80. Também Joshi (1995) observou significativa redução em  $F_v/F_m$  durante períodos de alta luminosidade em folhas expostas ao sol. Em oposição, Groninger et al. (1996) não encontraram diferenças significativas na eficiência fotoquímica em quatro espécies florestais em resposta a diferentes níveis de luz.

O estado hídrico das plantas foi acompanhado apenas no sentido de garantir que todos os tratamentos dispusessem da quantidade necessária de água, para que este fator não se constituísse em estresse.

A média geral do potencial hídrico máximo, tanto para época úmida quanto para a seca, foi de - 0,28 MPa. O potencial hídrico mínimo apresentou, na época seca, uma média de - 1,03 MPa, e na úmida - 0,83 MPa. O resultados obtidos, mostrados na Tabela 5, revelam que não houve diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos e épocas, uma vez que, mesmo sob várias condições de luminosidade que determinariam diferentes possibilidades de evapotranspiração, a disponibilidade de água foi mantida por irrigação. Esses resultados evidenciam que as regas realizadas foram suficientes para manter o estado hídrico das plantas ao longo do período experimental.

TABELA 5. Potencial hídrico máximo e mínimo de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância em duas épocas do ano.

Níveis de irradiância/ Épocas	Potencial hídrico máximo (-MPa)			Potencial hídrico mínimo (-MPa)		
	Seca	Úmida	Média	Seca	Úmida	Média
100%	0,19aA	0,29aA	0,24a	0,93aA	0,79aA	0,86a
70%	0,29aA	0,29aA	0,29a	0,98aA	0,80aA	0,89a
50%	0,20aA	0,27 aA	0,24a	1,17aA	0,90aA	1,04a
Média	0,28A	0,28A	-	1,03A	0,83A	-

- Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A Figura 3 mostra que os níveis de 70% e 50% proporcionaram maior altura de plantas nas duas épocas, sendo a época úmida mais favorável, enquanto que, a 100% de luz, as plantas foram significativamente mais baixas, como pode ser observado na Tabela 6. Esses resultados concordam com o comportamento de algumas lenhosas heliófilas que, quando jovens, apresentam seu crescimento prejudicado a pleno sol (Gomes et al., 1979; Inoue, Galvão e Torres, 1979; Castro, Alvarenga e Gomide, 1996). A restrição ao crescimento a pleno sol, também na época úmida, parece estar relacionada à maior exposição dessas plantas à ação dos ventos que, nessa época, é comum e fundamentalmente importante. Considerando que a velocidade do vento afeta a espessura da camada limite e as camadas limites afetam a temperatura das folhas, logo alguns processos na planta, que dependem também da temperatura, poderão ser afetados (Björkman, 1981). Os tratamentos de 70% e 50% foram mais favorecidos pela época úmida, uma vez que não sofreram os efeitos dos ventos devido à proteção do “sombrite”.

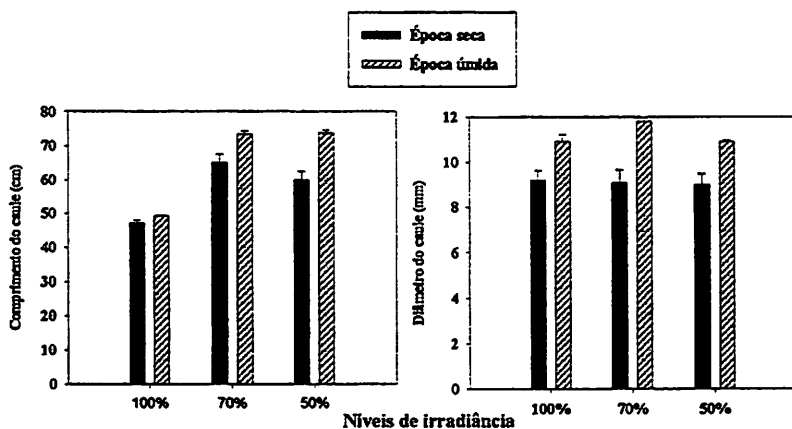


FIGURA 3. Comprimento e diâmetro do caule de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância em duas épocas do ano. O erro padrão está indicado nas barras verticais.

TABELA 6. Comprimento e diâmetro do caule de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância em duas épocas do ano.

Níveis de irradiância/ Épocas	Comprimento do caule (cm)			Diâmetro do caule (mm)		
	Seca	Úmida	Média	Seca	Úmida	Média
100%	47,2bA	49,3bA	48,2b	9,2aB	10,9aA	10,1a
70%	65,1aB	73,4aA	69,2a	9,1aB	11,8aA	10,5a
50%	60,0aB	73,8aA	66,9a	9,0aB	10,9aA	10,0a
Média	57,4B	65,5A	-	9,1B	11,2A	-

- Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação ao diâmetro do caule, foram observadas diferenças, apenas entre épocas, não sendo, portanto, significativa a interação entre tratamentos e épocas. A diferença entre épocas foi observada em cada tratamento (Tabela 6 e Figura 3). Ao contrário do que se observou com o crescimento em altura, as plantas a pleno sol não tiveram o crescimento em diâmetro reduzido em relação aos tratamentos sombreados. Isso, provavelmente, reflete um maior investimento em espessura em detrimento da altura. Segundo Kozlowski (1962), citado por Naves (1993), o crescimento em diâmetro guarda uma relação mais direta com a fotossíntese líquida em relação ao crescimento do caule, o qual depende mais dos carboidratos acumulados e de um balanço favorável entre fotossíntese líquida e respiração. Alguns autores relatam maiores diâmetros do caule em plantas submetidas a maiores níveis de luz, como em *Hymenaea stygnocarpa* e *Schizolobium parahyba* (Ferreira, 1977; Ferreira et al., 1977), em *Zeyhera tuberculosa*, *Tabebuia avellanadae* e *Erythrina speciosa* (Engel, 1989) e *Platycyamus regenelli* (Scalon, 1991).

Para a característica área foliar específica (AFE), relação entre área e peso da folha, houve diferenças significativas entre os tratamentos, em que o nível de 100% proporcionou a maior AFE (Tabela 7), não diferindo entretanto, do nível de 70%. Segundo Dale (1988), a área foliar das espécies que evitam o sombreamento aumenta com a elavação da radiação solar, ao passo que a área foliar de espécies tolerantes ao sombreamento tende a ser aumentada em condições de baixa disponibilidade de radiação solar. O autor afirma que, possivelmente, em plantas que evitam a sombra, a expansão foliar está intimamente ligada à fotossíntese e à disponibilidade de esqueletos de carbono, provenientes das folhas mais velhas ou da fotossíntese da própria folha. Assim, a resposta é determinada pela quantidade de substrato disponível. Por outro lado, em plantas tolerantes à sombra, as respostas dependentes da qualidade da luz



parecem ser o principal determinante do crescimento foliar, com a regulação ocorrendo através do modo de utilização do substrato e não pela quantidade de fotoassimilados disponíveis. Variação na espessura da folha relacionada ao nível de irradiância foi observada também em *Plectranthus parviflorus* Henkel (Nobel, Zaragoza e Smith, 1975), em que as folhas triplicaram em espessura com o aumento da luz.

TABELA 7. Área foliar específica (AFE  $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ) de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância (média de oito plantas).

Níveis de irradiância	AFE ( $\text{dm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ )
100%	32,5a
70%	25,6ab
50%	24,5b

- Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação às características de matéria seca da parte aérea (folhas e caule), a análise de variância para a matéria seca nas folhas não revelou diferenças significativas entre os tratamentos. Entretanto, houve diferenças significativas entre os tratamentos para matéria seca do caule, sendo o nível de 70% o que proporcionou maior acúmulo de matéria seca (Tabela 8), não diferindo de 50%. Esses resultados confirmam a necessidade de um sombreamento parcial para um melhor desenvolvimento inicial dessa espécie. Condições semelhantes são requisitadas também em outras heliófilas como *Peltophorum dubium* (Ferreira et al., 1977), *Eucaliptus* (Gomes et al., 1979), *Muntingia calabura* L. (Castro, Alvarenga e Gomide, 1996). Contudo, houve uma maior proporção de biomassa alocada nas folhas e raízes das plantas a pleno sol em relação às sombreadas (Figura 4). Uma maior proporção de tecido foliar

sob alta luminosidade poderá estar associada com uma alocação mais reduzida para os tecidos do caule, o que resultou em uma menor altura das plantas nesse tratamento. Padrões semelhantes foram encontrados em *Muntingia calabura* L. (Castro, Alvarenga e Gomide, 1996).

**TABELA 8. Matéria seca das folhas (MSFOL), do caule (MSCA), total das raízes (MSTR), das raízes primárias (MSRp) e das raízes secundárias (MSRs) e razão entre a matéria seca das raízes e matéria seca da parte aérea (MSR/MSPA) de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância (média de oito plantas).**

Níveis de irradiância	MSFOL (g)	MSCA (g)	MSRT (g)	MSRp (g)	MSRs (g)	MSR/MSPA
100%	10,1a	16,9b	49,3a	44,6a	4,7a	1,8 <sup>a</sup>
70%	10,9a	24,6 <sup>a</sup>	56,4a	51,9a	4,5a	1,7 <sup>a</sup>
50%	10,3a	21,3ab	56,2a	50,7a	5,5a	1,8 <sup>a</sup>

- Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

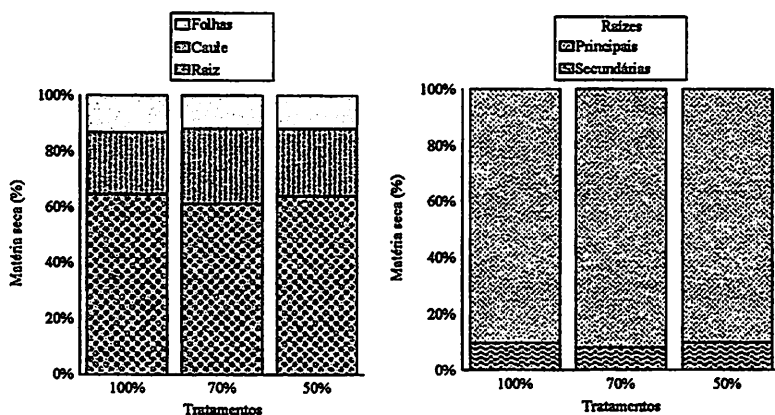


FIGURA 4. Distribuição de matéria seca nas folhas, caule e raiz e nas raízes principais e secundárias de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis irradiância.

A análise da matéria seca total de raízes e sua divisão em matéria seca da raiz principal (pivotante) e das raízes secundárias mostrou que não houve diferenças significativas entre os tratamentos para essas características. A alocação de biomassa proporcional nas raízes, (Figura 4), mostra que 90,9% da matéria seca total das raízes concentra-se na raiz principal.

Pode-se observar na Tabela 9 que para o nível correspondente a 100% de irradiância ocorreu uma redução significativa no teor de clorofila total de aproximadamente 28% em relação ao tratamento com maior sombreamento (Tabela 9). A análise de variância envolvendo os níveis de luz e épocas, revelou que houve diferença significativa entre os níveis de luz e também entre épocas. A redução no teor de clorofilas em folhas a pleno sol (por unidade de massa) é amplamente relatada na literatura, como registrado por Engel e Poggiani (1991) e

Naves (1993) em espécies florestais e em kiwi (Chartzoulakis, Therios e Noitsakis 1995).

TABELA 9. Teor de clorofila total e razão clorofila *a/b*. de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância em duas épocas do ano (média de dez plantas).

Níveis de irradiância/ Épocas	Clorofila total (mg.g <sup>-1</sup> de matéria fresca)			Clorofila <i>a/b</i>		
	Seca	Úmida	Média	Seca	Úmida	Média
100%	8,70bA	5,94bB	7,32b	5,10aA	4,12aB	4,62a
70%	10,82aA	7,90aB	9,36a	4,62abA	4,58aA	4,60a
50%	12,10aA	8,24aB	10,18a	4,38bA	4,80aA	4,58a
Média	10,54A	7,36B	-	4,70A	4,50A	-

- Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Não foram observadas diferenças nas razões clorofila *a/b* envolvendo os níveis de luz e épocas. Entretanto, a interação dos tratamentos por épocas foi significativa. A proporção entre as clorofilas *a* e *b*, de uma maneira geral, tende a diminuir com a redução da luz (Boardman, 1977; Kozłowski, Kramer e Pallardy 1991), devido a uma maior proporção relativa de clorofila *b* em ambiente sombreado.

O nível de 100% proporcionou maior razão clorofila *a/b* na época seca, entretanto não diferiu do nível de 70% (Tabela 9). Esses resultados concordam com o relato de alguns autores (Johnson, Nell e Rosenbaun, 1982; Tinoco e Vazquez-Yanes, 1985; Lee, 1988; Engel e Poggiani, 1991; Sarracino, Merrit e Chin, 1992; Lei e Lechowicz, 1998), contudo outros autores não encontraram

diferenças entre essas proporções (Inoue, 1983; Graça, 1983; Nygren e Kellomaki, 1983/84; Kappel e Flore, 1983).

## 4. 2 Flavonóides Totais

Níveis crescentes de irradiância favoreceram o acúmulo de flavonóides totais em relação ao tratamento mais sombreado, como se nota na Tabela 10. Conforme observado na análise de variância, houve diferenças significativas entre os níveis de luz e as épocas e a interação níveis de irradiância x épocas não foi significativa. A época úmida que apresentou um fluxo de RFA superior à época seca, possibilitou um aumento de aproximadamente 40% desses teores nos tratamentos mais iluminados e de 33% no tratamento de 50%. Uma associação positiva entre o aumento na intensidade de luz e níveis de fenólicos, vêm, há algum tempo, sendo relatados por vários autores (Hillis e Swain, 1959; Woodhead, 1981; Waring et al., 1985). Considerando que flavonóides e outros fenólicos são citados na literatura como substâncias que podem funcionar como filtros de radiações para determinados comprimentos de onda como a ultravioleta, sendo que esta radiação estimula a síntese destes compostos, é coerente que plantas mais expostas à luz concentrem maiores teores de flavonóides entre outros compostos filtradores.

TABELA 10. Teores de flavonóides totais em folhas de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância em duas épocas do ano (médias de dez plantas).

Níveis de irradiância/ Épocas	Flavonóides totais (%)		
	Seca	Úmida	Média
100%	0,31aB	0,52aA	0,42a
70%	0,28aB	0,48aA	0,39a
50%	0,24aB	0,36bA	0,29b
Média	0,276B	0,455A	-

- Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Modificações sazonais, segundo alguns autores (Delitala et al., 1983; Pitarevic et al., 1984), afetam a produção de compostos secundários. Também o estágio de desenvolvimento (vegetativo ou reprodutivo) podem caracterizar teores diferentes de um determinado metabólito (Jogia, 1984; Weglarz e Karaczun, 1996). Nesse aspecto, as avaliações feitas com duas árvores adultas de *Bauhinia forficata* Link, nas épocas seca e úmida, resultaram em concentrações bem menores de flavonóides totais (0,29% e 0,33%, respectivamente) em relação às plantas jovens acompanhadas no experimento. Esses resultados, contudo, não puderam receber um tratamento estatístico, prestando-se apenas como um indicativo das variações no metabolismo de flavonóides durante a ontogenia da planta, como pode ser observado na Tabela 11.

TABELA 11. Teores de flavonóides (%) totais nas épocas seca e úmida em duas árvores adultas de *Bauhinia forficata* Link.

Árvores	Época Seca	Época Úmida	Média
1	0,28	0,33	0,31
2	0,30	0,32	0,31
Média	0,29	0,33	0,31

#### 4.3 Anatomia foliar

Para a característica número de células, observaram-se diferenças significativas entre os tratamentos (100%, 70% e 50% de irradiância) e entre as regiões da folha, não havendo, porém, interação dos tratamentos considerando as regiões da folha. O nível de 100% proporcionou maior número de células, sendo as regiões do ápice e mediana das folhas as que apresentaram maior número de células (Tabela 12). A Figura 5 apresenta as características das células epidérmicas adaxial e abaxial nos três níveis de irradiância. A epiderme adaxial é constituída por células com paredes onduladas, sendo rara a presença de estômatos, que geralmente estão localizados próximos às nervuras. Embora a epiderme abaxial apresente células também com contorno ondulado, elas apresentam, por outro lado, grande número de estômatos com células subsidiárias, sendo duas polares e duas laterais. Foram observados, também, tricomas cônicos.

**TABELA 12. Médias do número de células e do número de estômatos em folhas de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância.**

Níveis de irradiância/ Regiões	Número de células				Número de estômatos			
	Ápice	Meio	Base	Média	Ápice	Meio	Base	Média
100%	102,8aA	100,8aA	98,8aA	100,8a	618,6aA	739,3aA	643,8aA	667,2a
70%	90,5bA	85,5bA	83,7bA	86,6b	621,6aA	657,1aA	656,4aA	645,0a
50%	90,5bA	90,1bA	83,9bA	88,2b	641,6aA	640,8aA	603,1aA	628,5a
Média	94,62A	92,12A	88,82B	-	627,3A	679,1A	634,4A	-

- Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



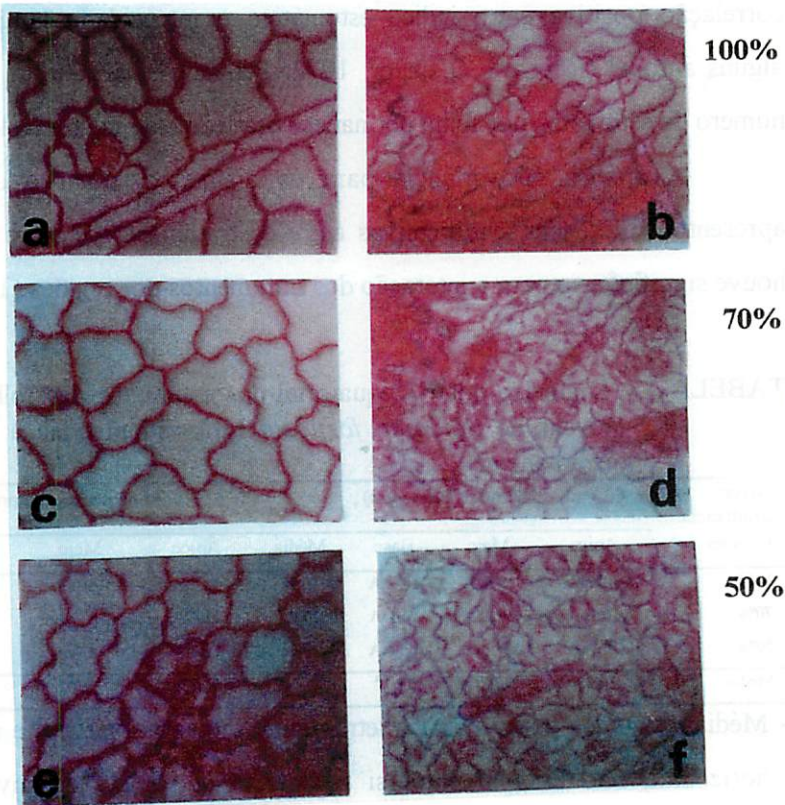
**EPIDERME ADAXIAL****EPIDERME ABAXIAL**

FIGURA 5. Células e estômatos das epidermes adaxiais (a, c e e) e abaxiais (b, d e f) de folhas de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância (100, 70 e 50%) onde a e b correspondem ao nível de 100%; c e d, ao nível de 70% e e e f, ao nível de 50%. A barra corresponde a 50  $\mu$ m.

O número total de estômatos não foi influenciado pelos níveis de irradiância e pelas regiões da folha, não havendo significância para a interação dos tratamentos por regiões (Tabela 12). A literatura relata amplamente uma correlação positiva entre índice estomático e intensidade luminosa. Contudo alguns autores (Knecht e O'Leary, 1972; Peterson et al., 1986) afirmam que o número de estômatos por folha permanece praticamente inalterável.

A análise de variância para os diâmetros, polar e equatorial, não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos e entre regiões, e não houve significância para a interação dos tratamentos por regiões (Tabelas 13).

TABELA 13. Diâmetro polar e equatorial dos estômatos das folhas de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a três níveis de irradiância.

Níveis de irradiância/ Regiões	Diâmetro polar ( $\mu\text{m}$ )				Diâmetro equatorial ( $\mu\text{m}$ )			
	Ápice	Meio	Base	Média	Ápice	Meio	Base	Média
100%	16,6aA	17,4aA	16,9aA	16,9a	11,7 <sup>a</sup> A	12,1aA	12,2aA	11,99a
70%	16,9aA	17,1aA	17,1aA	17,0a	11,7 <sup>a</sup> A	12,1aA	12,2aA	11,99a
50%	16,8aA	17,2aA	17,4aA	17,1a	11,8 <sup>a</sup> A	12,2aA	11,5aA	11,87a
Média	16,8A	17,2A	17,1 <sup>A</sup>	-	11,7A	12,1A	12,0A	-

- Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A secção transversal da lâmina foliar mostrou uma epiderme uniestratificada e um mesofilo ocupado, de modo geral, por duas camadas de tecido paliçádico com presença de idioblastos secretores (cristais tipo drusas). Os feixes vasculares menores localizados no mesofilo se apresentam envolvidos por uma ou mais camadas de células que se dispõem, compactamente, constituindo a bainha do feixe. As bainhas envolvem as terminções vasculares de tal maneira que xilema e floema, em seu transcurso na folha, não fiquem expostos ao ar

contido nos espaços intercelulares. Muitas plantas  $C_3$  têm bainhas dos feixes bem desenvolvidas e cloroplastos presentes, não existindo, no entanto, a disposição radial das células do clorênquima, características da estrutura Kranz de plantas  $C_4$ .

As células em paliçada dos níveis de 100% e 70% apresentaram-se mais organizadas que às do tratamento mais sombreados (Figura 6). Essas células estão mais unidas e são mais alongadas em direção perpendicular à superfície da folha. O arranjo dos cloroplastídeos nas laterais dessas células, colocando-os em um plano paralelo à luz incidente, caracteriza um mecanismo de proteção ao sistema fotossintético, prevenindo um dano quando o nível de irradiância é elevado (Figura 6). O nível de 50% não evidencia a presença dos cloroplastídeos, possivelmente por eles estarem localizados em disposição paralela à superfície da folha, ou seja, perpendiculares à luz incidente permitindo uma absorção máxima da luz (Taiz e Zeiger 1991). No nível de 100% de irradiância, o tecido paliçadico constituiu 80% do mesofilo. Essa anatomia característica possibilitou as folhas mais expostas ao sol uma maior área foliar específica, demonstrado também por outros autores (Bjorkman e Holmgren, 1963; Bowes, Ögren e Hageman 1972; Crookston et al., 1975; Nobel, Zaragoza e Smith 1975). De maneira oposta, folhas sombreadas tendem a desenvolver uma maior superfície foliar, reduzindo a espessura de forma a permitir melhor aproveitamento da radiação incidente. Os tratamentos, representados pelos níveis de 70% e 50%, apresentaram, respectivamente, o tecido paliçadico constituído por 73% e 71% do mesofilo, sendo as folhas mais delgadas no tratamento mais sombread. Assim, o tratamento de 50% apresentou as suas folhas mais finas em relação aos tratamentos mais iluminados.



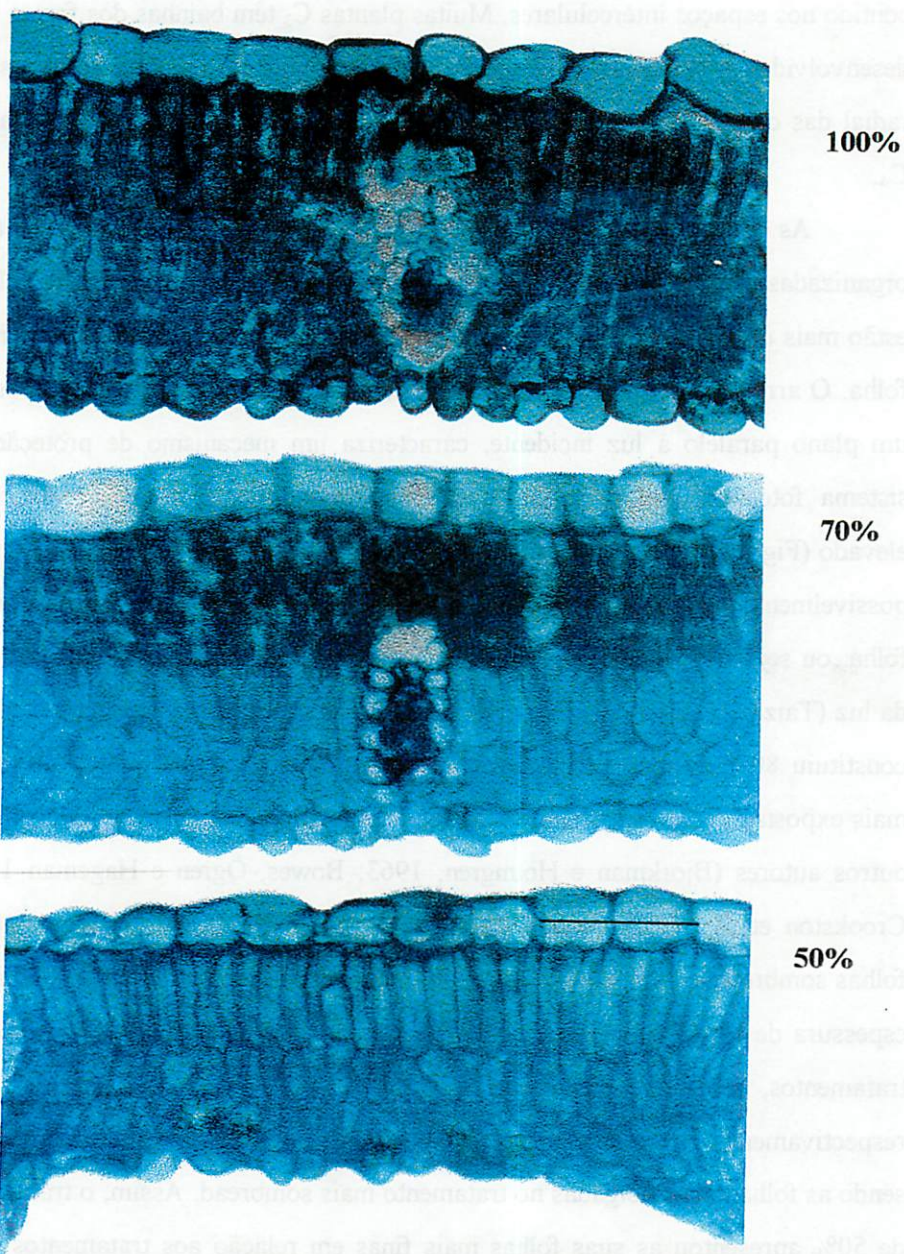


FIGURA 6. Secção transversal do mesofilo das folhas de *Bauhinia forficata* Link. sob os níveis de 100%, 70% e 50% de irradiância. A barra corresponde a 50  $\mu$ m.

## 5. CONCLUSÕES

Neste estudo, as diferentes condições de luminosidade e as modificações sazonais (épocas seca e úmida), as quais as plantas foram submetidas promoveram efeitos diversos sobre características fisiológicas e de crescimento, apresentando melhor desempenho nos tratamentos sombreados e na época úmida, sendo que, para as clorofilas, a-época seca foi melhor. A concentração de flavonóides foi maior nos tratamentos mais iluminados durante a época úmida.

A característica anatômica, número total de estômatos, não sofreu influência dos tratamentos. No entanto, plantas submetidas a maior intensidade de luz, apresentaram folhas mais grossas devido ao maior espessamento do tecido paliçadico.

Para essa espécie, sob as condições experimentais em que foi realizado o trabalho, verificou-se que o tratamento de 70% de luz se mostrou o mais indicado para a biossíntese de flavonóides e para o crescimento inicial dessas plantas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS, M. D. Leaf structural and photosynthetic pigment characteristics of three gallery-forest hardwood species in Northeast Kansas. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.22, p.261-266, 1987.
- ALCARAZ, M. J.; JIMÉNEZ, M. J. Flavonoids as anti-inflammatory agents. **Fitoterapia**, Itália, v.59, n.1, p.25-38, 1988.
- BARNES, P. W.; FLINT, S. D., CALDWELL, M. N. Morphological responses of crop and weed species of different growth forms to ultraviolet-B radiation. **American Journal of Botany**, v.77, p.1354-1360, 1990.
- BARRADAS, V. L.; JONES, H. G.; CLARK, J. A. Stomatal responses to changing irradiance in *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Experimental Botany**, v.45, n.276, p.931-936, July 1994.
- BENAVENTE-GARCIA, O.; CASTILLO, J.; MARIN, R. F.; ORTUÑO, AA.; DEL RIO, J. AA. Uses and properties of *Citrus* flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, n.12, Dec. 1997.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**. Jaboticabal: FUNEP. 1988. 41p.
- BJÖRKMAN, O.; HOLMGREN, P. Adaptability of the photosynthetic apparatus to light intensity in ecotypes from exposed and shaded habitats. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v.16, p.889-914, 1963.
- BJÖRKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O.L.; NOBEL, P. S.; OSMOND, C. B.; ZIEGLER, H. (eds.). **Physiological plant ecology I - responses to the physical environment**. Encyclopedia of Plant Physiology, New York: Springer-Verlag, 1981. 652p.
- BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v.28, p.355-377, 1977.



- BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S. P.; BAKER, N. R.; ÖQUIST, G.; SCHREIBER, U.; LECHNER, E. G. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. **Functional Ecology**, v.3, p.497-514, 1989.
- BOWES, G.; OGREN, W. L.; HAGEMAN, R. H. Light saturation, photosynthesis rate, RuDP carboxilase activity and specific leaf weight in soybeans grown under different light intensities. **Crop Science**, Madison, v.12, p.77-79, 1972.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. **Normais Climatológicas**, Brasília, 1992. 84p.
- BUKATSH, F. Benerkungren zur doppelfarbung astrablausafranina. **Microkosmos**, v.61, p.255, 1972.
- BUTTERY, B. R.; GAYNOR, J. D.; BUZZELL, R. I.; MACTAVISH, D. C.; ARMSTRONG, R. J. The effects of shading on kaempferol content and leaf characteristics of five soybean lines. **Physiology Plantarum**, v.86, p.278-284, 1992.
- CALDWELL, M. M.; ROBBERECHT, R.; FLINT, S. D. Internal filters: prospects for UV-acclimation in higher plants. **Physiology Plantarum**, v.58, p.445-450, 1983.
- CASTRO, E. A. de; ALVARENGA, A. A.; GOMIDE, M. B. Crescimento e distribuição de matéria seca de mudas de calabura (*Muntingia calabura* L.) submetidas a três níveis de irradiância. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.20, n.3, p.357-365, jul./set. 1996.
- CHARTZOULAKIS, K.; THERIOS, I.; NOITSAKIS, B. Effects of shading on gas exchange specific leaf weight and chlorophyll content in four kiwifruit cultivars under field conditions. **Journal of Horticultural Science**, v.68, n.4, p.605-611, 1995.
- CLEMENTE FILHA, A. C. Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de *Bauhinia forficata* Link e *Plantago major* L. Lavras: UFLA, 1996. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal). 67p.

- COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids - chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources - review. *The Journal of Nutrition Biochemistry*, v.7, n.1, p.66-76, 1996.
- COOMBS, J.; HALL, D. O. (eds). *Techniques in bioproductivity and photosynthesis*. Oxford: Pergamon Press, 1982. 191p.
- CROOKSTON, R. K.; TREHARNE, K. J.; LUDFORD, P.; OZBUN, J. L. Response of beans to shading. *Crop Science*, Madison, v.15, p.412-416, 1975.
- DALE, J. E. The control of leaf expansion. *Annual Review of Plant Physiology*, California, v.39, p.267-295, 1988.
- DELITALA, L. F.; SOLINAS, V.; GESSA, C.; FALCHI-DELITALA, L. Seasonal quantitative and variation in the essential oils and phenols in *Thymus capitatus* Hofmngg and in *Thymus herba-barone* Loisel. *Fitoterapia*, Itália, v.54, n.2, p.87-96, 1983.
- DENGLER, N. G. Comparative histological basis of sun and shade leaf dimorphism in *Helianthus annuus*. *Can. J. Bot.*, v.58, p.717-790, 1980.
- DEY, P. M.; HARBONE, J. B. *Plant biochemistry*. San Diego: Academic Press, 1997. 554p.
- ECKSTEIN, K.; ROBINSON, J. C. Physiological responses of banana (*Musa* AAA; Cavendish sub-group) in the subtropics. II. Influence of climatic conditions on seasonal and diurnal variations in gas exchange of banana leaves. *Journal of Horticultural Science*, p.157-167, 1995.
- ENGEL, V. L. Influência do sombreamento sobre o crescimento de mudas de essências nativas, concentração de clorofila nas folhas e aspectos de anatomia. Piracicaba: ESALQ/USP, 1989. 202p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.3, n.1, p.39-45, 1991.



- FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. S. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 33, p.317-345, 1982.
- FAY, P. A.; KNAPP, A. K. Stomatal and photosynthetic responses to shade in sorghum, soybean and castern gamagrass. **Physiologia Plantarum**, v.94, p.613-620, 1995.
- FERREIRA, M. das G. M. Efeito do sombreamento na produção de mudas de quatro espécies florestais nativas. Viçosa: UFV, 1977. 45p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- FERREIRA, M. das G. M.; CÂNDIDO, J. F.; CANO, M. A. O.; CONDÉ, A. R. Efeito do sombreamento na produção de mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Árvore**, Viçosa, v.1, n.2, p.121-134, 1977.
- GILMORE, A. M.; HAZLETT, T. L.; DEBRUNNER, P. G.; GOVINDJEE. Comparative time-resolved photosystem II chlorophyll a fluorescence analyses reveal distinctive differences between photoinhibitory reaction center damage and xanthophyll cycle-dependent energy dissipation. **Photochemistry and Photobiology**, v.64, n.3, p.552-563, 1996.
- GOMES, J. M.; BRANDI, R. M.; COUTO, L.; BARROS, N. F. de. Efeito do sombreamento e tipo de suportes para fertil-pot na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **Revista Floresta**, Curitiba, v.10, n.1, p.24-48, 1979.
- GRAÇA, M. E. C. Influence of light intensity on growth nodulation and nitrogen fixation of selected woodytl actinorhizal species. Purdue, 1983. 109p. (Philosophy Doctor Thesis - Purdue University).
- GRONINGER, J. W.; SEILER, J. P. R.; PETERSON, J. A.; KREH, R. E. Growth and photosynthetic responses of four Virginia Piedmont tree species to shade. **Tree Physiology**, Victoria, v.16, p.773-778, 1996.
- HE, J.; CHEE, C. W.; GOH, C. J. "Photoinhibition" of *Heliconia* under natural tropical conditions: the importance of leaf orientation for light interception and leaf temperature. **Plant, Cell and Environment**. v.19, p.1238-1248, 1996.

- HILLIS, W. E.; SWAIN, T. The phenolic constituents of *Prunus domestica* II. The analysis of tissues of the Victoria plum tree. **Journal of Sciencey Food Agricultural**. V.10, p.135-144, 1959.
- HINCKLEY, T. M.; BRAATNE, J. H. Stomata. In: WILKINSON, R. E. (ed.). **Plant environment interactions**, New York: Marcel Dekker, Inc., 1994. P.323-355.
- HUC, R.; FERHI, A.; GUEHL, J. M. Pioner and late stage tropical rainforest tree species (French Guiana) growing under common condition differ in leaf gas exchange regulation, carbon isotope discrimination and leaf water potential. **Oecologia**, v.99, p.297-305, 1994.
- HUKERI, V. I.; KALYANI, G. A.; KAKRANI, H. K. Hypoglycemic activity of flavonoids of *Phyllanthus fraternus* in rats. **Fitoterapia**. v.LIX, n.1, p.68-70, 1988.
- INOUE, M. T.; GALVÃO, F.; TORRES, D. V. Estudo ecofisiológico sobre *Araucaria angustifolia* (BERT.) O. KTZE. : fotossíntese em dependência à luz no estágio juvenil. **Revista Floresta**, Curitiba, v.10, n.1, p.5-9, 1979.
- INOUE, M. T. Bases fisiológicas para a silvicultura de espécies nativas. In: INOUE et al. (eds). **A silvicultura de espécies nativas**. Curitiba: FUPEF, 1983, p.1-8.
- IRIBARREN, A. M.; POMILIO, A. B. Components of *Bauhinia candicans*. **Journal of Natural Products**. v.46, n.5, p.752-753, 1983.
- JARVIS; P. G.; MORISON, J. I. L. The control of transpiration and photosynthesis by the stomata. In: JARVIS, P. G.; MANSFIELD, T. A. (eds). **Stomatal physiology**. Cambridge: Cambridge University Press. p.247-279. 1981.
- JOGLA, M. K. Essential oil composition at different stages of growth in two Fiji Ocimums. **Fiji Agricultural Journal**. v.46, n.2, p.9-12, 1984.
- JOHANSEN, D. J. **Plant micritechique**. New York: McGraw Hill Book Company. 1940. 523p.

- JOHNSON, C. R.; NELL, T. A.; ROSENBAUM, S. E. Influence light intensity and drought stress on *Ficus benjamina* L. **Journal American Society Horticultural Science**. v.107, n.2, p.253-255, 1982.
- JONES, R. H.; McLEOD, K. W. Growth and photosynthetic responses to a range of light environments in chinese tollowtree a Carolina ash seedlings. **Forest Science**, Washington. V.36, n.4, p.851-862, 1990
- JOSHI, S. C. Species specific diurnal changes in chlorophyll fluorescence in tropical deciduos and evergreen plants growing in the field during summer. **Photosynthetica**. v.31, n.4, p.549-557, 1995.
- KAPPEL, F.; FLORE, J. A. Effect of shade on photosynthesis, specific leaf weight clorophyll content of leaves and morphology of young peach trees. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.108, p.541-544, 1983.
- KHOSA, R. L.; PANDEY, V. B.; SINGH, J. P. Experimental studies on *Zizyphus rugosa* (Lam) bark. **Indian drugs**. v.20, n.7, p.241. In: **CHEMICAL ABSTRACT**, Washington, v.99, n.13, p.57, 1983. (abst. 99117).
- KIRSCHBAUN, M. U. F.; GROSS, L. J.; PEARCY, R. W. Observed and modelled stomatal responses to dynamic light environments in the shade plant *Alocasia macrorrhiza*. **Plant, Cell and Environment**, v.11, p.111-121, 1988.
- KNECHT, G. N.; O'LEARY, J. W. The effect of light intensity on stomate number and density of *Phaseolus vulgaris* L. leaves. **Bot. Gaz.**, v.133, n.2, p.132-134, 1972.
- KOZLOWSKI, T.; KRAMER, P. J.; PALLARDY, S. G. **The physiological ecology of woody plants**. London: Academic Press, 1991. 657p.
- KRAUSE, G. H.; WEISS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.313-349, 1991.
- KRAUSE, G. H. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanism. **Physiology Plantarum**, v.74, p.566-574, 1988.

- LABORIAU, L. G.; OLIVEIRA, J. C.; SALGADO-LABORIAU, M. L. Transpiração de *Shizolobium parhyba* (Vell.). TOLEDO, J. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais, Brasil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro, v.33, n.2, p.237-257, 1961.
- LARCHER, W. *Physiological plant ecology*. 3.ed. Tradução de Joy Wieser. Berlin: Springer-Verlag, 1995. 506p.
- LEE, D. W. Simulating forest shade to study the developmental ecology of tropical plants: juvenile growth in three vines in India. *Journal of Tropical Ecology*, Cambridge, v.4, p.281-292, 1988.
- LEI, T. T.; LECHOWICZ, M. J. Diverse responses of maple saplings to forest light regimes. *Annals of Botany*, v.82, p.9-19, 1998.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras*. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.
- McCLURE, J. W. Physiology and functions of flavonoids. In: HARBONE, J. B.; MABRY, I. J.; MABRY, H. (eds). *The flavonoids*, New York: Academic Press, p.970-1055. 1975.
- MEDRI, M. E.; LLERAS, E. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* Muell Arg. *Acta Amazônica*, Manaus, v.10, n.3, p.463-493, 1980.
- MIDDLETON, E. M.; TERAMURA, A. H. The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage. *Plant Physiology*, v.103, p.741-752, 1993.
- NAVES, V. L. Crescimento, distribuição de matéria seca, concentração de clorofilas e comportamento estomático de mudas de três espécies florestais submetidas a diferentes níveis de radiação fotossinteticamente ativa. Lavras: ESAL, 1993. 76p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- NOBEL, P. S.; ZARAGOZA, L. J.; SMITH, W. K. Relation between mesophyll surface area, photosynthetic rate and illumination level during development of leaves of *Plectranthus parviflorus* Henckel. *Plant Physiology*, v.55, p.1067-1070, 1975.

- NYGREN, M.; KELLOMAKI, S. Effect of shading on leaf structure and photosynthesis in young birches, *Betula pendula* Roth and *B. pubescens* Ehrh. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.7, p.119-132, 1983/1984.
- ÖGREN, E.; SUNDIN, U. Photosynthetic responses to variable light: a comparison of species from contrasting habitats. **Oecologia**, v.106, p.18-27, 1996.
- ÖGREN, E.; ÖQUIST, G. Effect of drought on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition susceptibility in intact willow leaves. **Planta**, v.166, p.380-388, 1985.
- PASSOS, L. P. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1996. 223p.
- PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K. Flavonoids as medicinal agents - Recent advances. **Fitoterapia**. v.LXII, n.5, p.271-388, 1991.
- PETERSON, J. C.; DURKIN, D. J.; SACALES, J. W. Effects of light level upon leaf area, anatomy and stomatal frequency of *Ficus benjamina* L. **Res. Circ., Ohio**, v.289, p.21-26, 1986.
- PITAREVIC, I.; KUFTINEC, J.; BLAZEVIC, N.; KUSTRAK, D. Seasonal variation of essential oil yield and composition of dalmatian sage, *Salvia officinalis*. **Journal of Natural Products**. v.47, n.3, p.409-412, 1984.
- QUAITE, F. E.; SUTHERLAND, B. M.; SUTHERLAND, J. C. Action spectrum for DNA damage in alfalfa lowers predicted impact of ozone depletion. **Nature**, v.358, p.576-578, 1992.
- SANTOS, M. D. dos; BLATT, C. T. T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.21, n.2, p.135-140, agosto 1998.
- SARRACINO, J. H.; MERRITT, R.; CHIN, C. K. Morphological anphysiological characteristics of *Leea coccina rubra* in response to light flux. **Hortscience**, v.27, n.5, p.400-403, 1992.
- SASS, M. **Botanical microtecnicque**. Iowa: Iowa College Press, 1951. 228p.

- SCALON, S. P. Q. Estudo da germinação de sementes e produção de mudas de pau-pereira (*Platygyamus regnellii* Benth.) Lavras, ESAL. 1991 (Dissertação-Mestrado em Fisiologia Vegetal). 62p.
- SCALON, S. P. Q.; ALVARENGA, A. A. Efeito do sombreamento sobre a formação de mudas de pau-pereira (*Platygyamus regnellii* Benth). *Revista Árvore*, Viçosa, v.17, n.3, p.265-270, 1993.
- SIEBNEICHLER, S. C.; SANT'ANNA, R.; MARTINEZ, C. A.; MOSQUIM, P. R.; CAMBRAIA, J. Alterações na fotossíntese, condutância estomática e eficiência fotoquímica induzidas por baixa temperatura em feijoeiro. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.10, n.1, p.37-44, 1998.
- STAPLETON, A. E.; WALBOT, V. Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. *Plant Physiology*, Rockville, v.105, p.881-889, 1994.
- STTAFORD, H. A. *Flavonoid metabolism*. Boca Raton: CRC Press, 1990. 298p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant physiology*. Redwood City: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1991. 565p.
- TAKAHASHI, A.; TAKEDA, K.; OHNISHI, T. Light-induced anthocyanin reduces the extent of damage to DNA in UV-irradiated *Centaurea cyanus* cells in culture. *Plant Cell Physiology*, v.32, n.4, p.541-547, 1991.
- TEVINI, M.; TERAMURA, A. H. UV-B effects on terrestrial plants. *Photochemistry and Photobiology*, v.50, p.479-487, 1989.
- THORMBER, J. P. Chlorophyll-proteins: light-harvesting and reaction center components of plants. *Annual Review of Plant Physiology*, California, v.26, p.127-158, 1975.
- TINOCO-OJANGUREN, C.; PEARCY, R. W. Stomatal dynamics and its importance to carbon gain in two rainforest *Piper* species. I. VPD effects on the transient stomatal responses to lightflecks. *Oecologia*, v.94, p.388-394, 1993.

- TINOCO, C. O.; VASQUEZ-YANES, C. Diferenças en poblaciones de *Piper hispidum* bajo condiciones de luz contrastante em una selva alta perenifolia. In: GOMEZ-POMPA, A.; AMO, S. R. del (eds). **Investigaciones sobre la regeneracion de selva alta en Veracruz. México. México: Editorial Alhambra Mexicana, 1985, Tomo II, p.267-281.**
- VERBELEN, J. P.; GREEF, J. A. Leaf development of *Phaseolus vulgaris* L. in light and in darkness. **Amer. Journal of Botany**, v.66, n.8, p.970-976, 1979.
- WARING, R. H.; McDONALD, A. J. S.; LARSSON, S.; ERICSSON, T.; WIREN, A.; ARWIDSSON, E.; ERICSSON, A.; LOHAMMAR, T. Differences in chemical composition of plants grown in constant relative growth rates with stable mineral nutrition. **Oecologia**, v.65, p.157-160, 1985.
- WEGLARZ, Z.; KARACZUN, W. Influence of plantation age and date of harvesting of herb on yield and chemical composition of the nettle (*Urtica dioica* L.). **Herba Polonica**, v.42, n.2, p.88-95, 1996. (CD-ROM CAB Abstracts, 1996-7/98).
- WOODHEAD, S. Environmental and biotic factors affecting the phenolic content of different cultivars of *Sorghum bicolor*. **Journal Chemical Ecology.**, v.7, p.1035-1047, 1981.

## ANEXO

ANEXO A		Página
TABELA 14A	Resumo das análises de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para as características DPV, RFA, gs e razão $F_v/F_m$	59
TABELA 15A	Resumo das análises de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para as características potencial hídrico máximo e mínimo.	59
TABELA 16A	Resumo das análises de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para as características altura de plantas e diâmetro do caule	60
TABELA 17A	Resumo da análise de variância entre os níveis de irradiância para a característica área foliar específica (AFE)	60
TABELA 18A	Resumo das análises de variância entre os níveis de irradiância para as características matéria seca das folhas (MSFOL), do caule (MSCA), total das raízes (MSTR), das raízes principais (MSRp) e das raízes secundárias (MSRs) e razão entre a matéria seca das raízes e matéria seca da parte aérea (MSR/MSPA)	61
TABELA 19A	Resumo das análises de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para as características clorofila total e razão clorofila <i>a/b</i>	61
TABELA 20A	Resumo da análise de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para a característica flavonóides totais	62
TABELA 21A	Resumo das análises de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para as características número de células, número de estômatos, diâmetro polar e diâmetro equatorial	62



TABELA 14 A. Resumo das análises de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para as características DPV, RFA, gs e razão  $F_v/F_m$ .

FV	GL	Quadrados Médios			
		DPV	RFA	gs	$F_v/F_m$
Níveis de irradiância (N)	2	0,529ns	1256,894**	160,964ns	0,009*
Erro a	6	0,309	59,942	1950,066	0,001
Épocas (E)	1	3,045*	477,323**	21439,68**	0,002ns
N x E	2	0,106ns	1,407ns	2,332ns	0,002ns
Erro b	6	0,479	8,221	1444,563	0,005
Média Geral		1,968	1095,327	53,363	0,701
CV (%)		35,18	8,28	71,22	10,06

TABELA 15 A. Resumo das análises de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para as características potencial hídrico máximo e mínimo.

FV	GL	Quadrados Médios	
		Potencial Máximo	Potencial Mínimo
Níveis de irradiância (N)	2	0,005ns	0,054ns
Erro a	6	0,016	0,025
Épocas (E)	1	0,013ns	0,179ns
N x E	2	0,004ns	0,007ns
Erro b	6	0,135	0,189
Média Geral		0,254	0,928
CV (%)		58,98	46,92

**TABELA 20 A. Resumo da análise de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para a característica flavonóides totais.**

FV	GL	Quadrados Médios	
		Flavonóides Totais	
Níveis de irradiância (N)	2	0,077**	
Erro a	27	0,005	
Épocas (E)	1	0,477**	
N x E	2	0,013ns	
Erro b	27	0,005	
Média Geral		0,366	
CV (%)		19,71	

**TABELA 21 A. Resumo da análise de variância envolvendo níveis de irradiância e regiões da folha para as características número de células, número de estômatos, diâmetro polar e diâmetro equatorial dos estômatos.**

FV	GL	Quadrados Médios			
		Células	Estômatos	Diâmetro Polar	Diâmetro Equatorial
Níveis de irradiância (N)	2	917,679**	5664,313ns	0,108ns	0,074ns
Erro a	12	69,995	13154,263	1,437	0,26
Regiões (R)	2	126,950**	11819,333ns	0,852ns	0,521ns
Erro b	8	8,92	5262,589	0,81	0,593
N x R	4	11,735	6453,771ns	0,281ns	0,298ns
Erro c	16	15,745	9466,902	0,859	0,215
Média Geral		91,85	646,924	17,059	11,951
CV (%)		4,32	15,04	5,43	3,88

TABELA 18 A. Resumo das análises de variância entre os níveis de irradiância para as características matéria seca das folhas (MSFOL), do caule (MSCA), total das raízes (MSRT), das raízes primárias (MSRp) e das raízes secundárias (MSRs) e razão entre a matéria seca das raízes e matéria seca da parte aérea (MSR/MSPA).

FV	GL	Quadrados Médios					
		MSFOL	MSCA	MSRT	MSRp	MSRs	MSR/MSPA
Níveis de irradiância	2	1,203ns	120,312*	128,682n	120,159ns	2,236ns	0,063n
Erro	21	5,367	27,741	216,862	198,634	3,063	0,216
Média		10,44	20,94	53,95	49,06	4,88	1,76
CV(%)		22,19	25,15	27,3	28,73	35,83	26,43

TABELA 19 A. Resumo das análises de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para as características clorofila total e razão clorofila *a/b*.

FV	GL	Quadrados Médios	
		Clorofila total	Clorofila <i>a/b</i>
Níveis de irradiância (N)	2	43,244**	0,004ns
Erro a	27	2,06	0,336
Épocas (E)	1	152,108**	0,536ns
N x E	2	1,708ns	2,520**
Erro b	27	2,064	0,36
Média Geral		8,95	4,602
CV (%)		16,05	13,01

**TABELA 20 A. Resumo da análise de variância envolvendo níveis de irradiância e épocas para a característica flavonóides totais.**

FV	GL	Quadrados Médios	
		Flavonóides Totais	
Níveis de irradiância (N)	2	0,077**	
Erro a	27	0,005	
Épocas (E)	1	0,477**	
N x E	2	0,013ns	
Erro b	27	0,005	
Média Geral		0,366	
CV (%)		19,71	

**TABELA 21 A. Resumo da análise de variância envolvendo níveis de irradiância e regiões da folha para as características número de células, número de estômatos, diâmetro polar e diâmetro equatorial dos estômatos.**

FV	GL	Quadrados Médios			
		Células	Estômatos	Diâmetro Polar	Diâmetro Equatorial
Níveis de irradiância (N)	2	917,679**	5664,313ns	0,108ns	0,074ns
Erro a	12	69,995	13154,263	1,437	0,26
Regiões (R)	2	126,950**	11819,333ns	0,852ns	0,521ns
Erro b	8	8,92	5262,589	0,81	0,593
N x R	4	11,735	6453,771ns	0,281ns	0,298ns
Erro c	16	15,745	9466,902	0,859	0,215
Média Geral		91,85	646,924	17,059	11,951
CV (%)		4,32	15,04	5,43	3,88