

**DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO,
CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E
FITOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE
DUAS ESPÉCIES DE GUACO, SUBMETIDAS
A DIFERENTES CONDIÇÕES DE
QUALIDADE DE RADIAÇÃO**

GIRLENE SANTOS DE SOUZA

2006

GIRLENE SANTOS DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO, CARACTERÍSTICAS
ANATÔMICAS E FITOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE DUAS
ESPÉCIES DE GUACO, SUBMETIDAS A DIFERENTES CONDIÇÕES
DE QUALIDADE DE RADIAÇÃO**

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

Orientador

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

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

Souza, Girlene Santos de

Desenvolvimento vegetativo, características anatômicas e fitoquímicas de plantas jovens de duas espécies de guaco, submetidos a diferentes condições de qualidade de radiação / Girlene Santos de Souza -- Lavras: UFLA, 2006.

118 p. : il

Orientador: Evaristo Mauro de Castro

Tese (Doutorado) – UFLA

Bibliografia.

1. *Mikania*. 2. Guaco. 3. Qualidade espectral. 4. Malhas coloridas. 5. Desenvolvimento vegetativo. 6. Cumarina. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título

CDD-633.88355

GIRLENE SANTOS DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO, CARACTERÍSTICAS
ANATÔMICAS E FITOQUÍMICAS DE PLANTAS JOVENS DE DUAS
ESPÉCIES DE GUACO, SUBMETIDAS A DIFERENTES CONDIÇÕES
DE QUALIDADE DE RADIAÇÃO**

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

APROVADA em 20 de dezembro de 2006.

Profa. Dra. Ângela Maria Soares	UFLA
Profa. Dra. Iara Mesquita Alvarenga Pereira	UFLA
Prof. Dr. Daniel Melo de Castro	UFLA
Prof. Dr. José Eduardo Brasil Pereira Pinto	UFLA

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

2006

*O Valor das coisas não está no tempo que elas duram,
mas na intensidade com que elas acontecem. Por isso, existem
momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas
incomparáveis.*

*Às minhas mães, Ana e Jardelina; à minha madrinha, Elizete, pela
vida, pelo amor e carinho dedicados e pelo apoio, amizade, palavras
de incentivo e educação.*

OFEREÇO.

*Ao meu companheiro, Anacleto Ranulfo dos Santos, pelo amor e por ter me
ajudado a enfrentar as dificuldades com serenidade e otimismo*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida e que sempre me iluminou, para enxergar e ter a consciência dos percalços do meu caminho.

As minhas mães, minha madrinha, aos meus irmãos, meus familiares e ao Anacleto, por todo amor e encorajamento.

Ao professor Evaristo Mauro de Castro, pela excelente orientação, apoio e, principalmente, pela amizade, confiança, ensinamentos e pela importante contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Ângela Maria Soares, pela co-orientação, incentivo, amizade e sugestões durante a realização do trabalho.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Setor de Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização do Doutorado.

À FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao coordenador do curso, Professor Renato Paiva, pela amizade, atenção sempre dispensada, apoio e confiança.

Aos funcionários do Laboratório de Microscopia Eletrônica, em especial ao Professor Eduardo Alves e à técnica Eloysa, pelo auxílio na realização das análises de microscopia eletrônica de varredura e transmissão.

Aos professores do curso de Fisiologia Vegetal: Luiz Edson, Donizete, Amauri e Ângela, por todos os conhecimentos transmitidos e amizade firmada.

À professora Maria das Graças Cardoso, do Laboratório de Química Orgânica, pelo auxílio nas análises fitoquímicas.

À Fundação Ezequiel Dias (FUNED), em especial à pesquisadora Maria Gorette Resende Duarte, pela realização das análises de cumarina.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

À amiga Maria Isabel de Oliveira, pela convivência, conselhos e valiosa amizade.

À Polysack Plastic Industries em especial ao Dr. Cícero Leite pelo apoio e auxílio na realização deste trabalho.

Aos funcionários do Horto de Plantas Medicinais da UFLA, em especial ao Professor José Eduardo pela colaboração nos trabalhos.

Aos estagiários do Laboratório de Anatomia Vegetal Gabriel Biagiotti, Cíntia, Lucas e Miriam pela colaboração nos trabalhos e amizade firmada.

Aos funcionários técnico-administrativos: Joel, Lena, Evaristinho, Ana Cristina, D'Artagnan, Izonel, Barrinha e Odorêncio pelo expressivo apoio e pela simpatia sempre constante.

Aos colegas da Fisiologia Vegetal: Marilza, Andréa Shan, Lenaldo Daniela, Cristina, Grécia, Morbeck, Anderson, Peterson, Sidnei, Rayres, Janaína, Alessandro, Karine, Larissa, João Paulo, Tereza, Graciele, Maiana, Fúlvia e Ivana pelo auxílio sempre que necessário, companheirismo, respeito e amizade.

Às amigas Fernanda Nery, Paula Cabral, Fernanda Grisi e aos amigos Anderson Melo e Marcelo P. Gomes pelas inúmeras horas de alegria, pela amizade, apoio e convívio.

Ao especial amigo Paulo Cairo pela constante lembrança, apoio e palavras de incentivo durante este tempo que estivemos fora do convívio dos nossos familiares e pela duradoura amizade.

Aos funcionários da Biblioteca da UFLA, por todo o auxílio prestado na busca de referências bibliográficas.

A todos que, de uma forma ou de outra, colaboraram para o encerramento desta etapa importante da minha vida e que, embora não citados aqui, não deixam de ter meu profundo agradecimento.

BIOGRAFIA

GIRLENE SANTOS DE SOUZA, filha de Epifanio Raimundo de Souza (*in memoriam*) e Ana dos Santos de Souza, nasceu em 17 de agosto de 1974, em Sapeaçu, Bahia. Concluiu o segundo grau do Curso de Formação para o Magistério em dezembro de 1991. Trabalhou como professora primária de 1992 a 1993. Em 1994, foi contratada pela Prefeitura Municipal de Sapeaçu para dar aulas no ensino fundamental no Colégio Estadual Dr. Eliel da Silva Martins (turno noturno), com carga horária de 20 horas semanais, onde permaneceu até o ano 2000. Em agosto de 1994, iniciou o curso de graduação em Engenharia Agrônômica, na Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia, concluindo-o em janeiro de 2000. Durante este período foi monitora da disciplina Biologia Geral e desenvolveu projetos de pesquisa na EMBRAPA/ Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia, como bolsista de iniciação científica do CNPq. Em março de 2001, iniciou o mestrado em Ciências, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo (CENA/USP), concluindo-o em abril de 2003. Após o mestrado atuou como professora da Escola Agrotécnica de Amargosa, na cidade de Amargosa, Bahia, como docente do Curso de Educação Profissional “Técnico em Agricultura”. Em agosto de 2004 iniciou o Doutorado em Agronomia, área de concentração Fisiologia Vegetal, na Universidade Federal de Lavras (UFLA). Em novembro de 2006 assumiu como Professora Assistente da Universidade Federal do Maranhão.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO I: Introdução geral.....	1
1 Introdução.....	2
2 Referencial teórico.....	4
2.1 Aspectos gerais da família Asteraceae.....	4
2.2 Descrição botânica e importância terapêutica das espécies.....	5
2.3 Óleos essenciais.....	11
2.4 Cumarinas.....	15
2.5 Influência da luz na fisiologia das plantas e anatomia foliar.....	18
2.6 Influência da luz na síntese de óleo essencial e cumarina.....	24
2.7 Malhas ChromatiNet.....	27
3 Referências bibliográficas.....	39
CAPÍTULO II: Efeito de diferentes condições de transmissão de luz, com uso de malhas coloridas no crescimento e aspectos fisiológicos de plantas jovens de <i>Mikania glomerata</i> Sprengel e <i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. Ex Baker (Asteraceae).....	38
1 Resumo.....	39
2 Abstract.....	40
3 Introdução.....	41
4 Material e métodos.....	44
5 Resultados e discussão.....	47
6 Referências bibliográficas.....	65
CAPÍTULO III: Aspectos da anatomia foliar e ultra-estrutura de cloroplastídeos de plantas jovens de <i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. Ex Baker (Asteraceae) cultivadas sob diferentes malhas coloridas.....	73

1 Resumo.....	74
2 Abstract.....	75
3 Introdução.....	76
4. Material e métodos.....	78
5 Resultados e discussão.....	81
6 Referências bibliográficas.....	90
CAPÍTULO IV: Influência da qualidade espectral, através de malhas coloridas, no teor do óleo essencial e conteúdo de cumarina de plantas de <i>Mikania glomera</i> Sprengel e <i>Mikania laevigata</i> Schultz Bip. Ex Baker (Guaco).....	95
1 Resumo.....	96
2 Abstract.....	97
3 Introdução.....	98
4 Material e métodos.....	101
5 Resultados e discussão.....	104
6 Conclusões	113
7 Referências bibliográficas.....	114

RESUMO

SOUZA, Girlene Santos de. **Desenvolvimento vegetativo, características anatômicas e fitoquímicas de plantas jovens de duas espécies de guaco, submetidas a diferentes condições de qualidade de radiação**. 2006. 116 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O guaco (*Mikania laevigata* e *Mikania glomerata*) Asteraceae é uma planta de reconhecida importância medicinal, como produtora de cumarina com ação antiinflamatória, broncodilatadora, anticancerígena, entre outras. Os estudos sobre os fatores ambientais, como a radiação, que interferem nas condições de cultivo de espécies medicinais são associados às alterações morfofisiológicas e, conseqüentemente, à síntese de compostos secundários. Este trabalho objetivou avaliar os efeitos da luz sobre aspectos do desenvolvimento vegetativo, alterações anatômicas e características fitoquímicas de plantas destas espécies, sombreadas por malhas de diferentes cores (azul, vermelha e cinza), e um tratamento a pleno sol. Em geral, os resultados demonstraram que a malha azul aumentou a matéria seca total e a área foliar das plantas, em relação às malhas vermelha, cinza e ao tratamento a pleno sol e um menor conteúdo de pigmentos foliares, em comparação com as malhas azul e preta. A alteração espectral mostrou efeito sobre a relação raiz/parte aérea, relação clorofila a/b, razões de área foliar e de peso foliar das plantas crescidas a pleno sol, em relação às plantas sombreadas. Quanto às diferentes malhas coloridas, a malha azul demonstrou a mais favorável ao desenvolvimento das duas espécies de Guaco. Os tratamentos com malhas coloridas alteraram o aspecto anatômico das espécies Guaco. Em relação ao conteúdo de óleo essencial houve diferença estatística entre os tratamentos, tendo a malha azul sido melhor para ambas as espécies. Quanto ao teor de cumarina, foi superior nas folhas da espécie *Mikania glomerata*, independente do tratamento.

* Comitê Orientador: Dr. Evaristo Mauro de Castro (Orientador), Dra. Ângela Maria Soares (Co-orientador).

ABSTRACT

SOUZA, Girlene Santos de. **Vegetative development, anatomic characteristics and phytochemistry of young plants of two species of guaco under different radiation quality conditions.** 2006. 116 p. These (Doctor degree in Vegetal physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Guaco (*Mikania laevigata* and *Mikania glomerata*) Asteraceae is a plant of recognized medicinal importance due to the production of cumarine a substance that among several properties, it has anti-inflammatory, bronchium dilatadora, anti cancerigena action. Environmental factors that interfere on the cropping conditions of medicinal species, such as the solar radiation quality, alter morphological plant characteristics and consequently the syntheses of secondary compounds. This study evaluated the effect of the light on vegetative development, anatomic alterations and phytochemistry characteristics of guaco, shaded by colored net (blue, red and gray) and plants fully exposed to the sun light. The plants shaded by blue net produced more total dry matter and foliar area as compared to the plants shaded by red or gray nets and plants fully exposed to the sun. Plants grown under fully exposed plants had different root/shoot, a/b chlorophyll and foliar area/foliar weight ratios as compared with plants growing under shaded conditions. Anatomic characteristics of the Guaco species were altered by colored net. For both Guaco species, plants growing under blue net produced more essential oils than plants growing on the other tested conditions. Regardless of the treatment, *M. gloemrata* had greater cumarina content than *M. laevigata*.

* Commite Members: Dr. Evaristo Mauro de Castro (Adviser), Dra. Ângela Maria Soares (Co-adviser).

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são utilizadas desde os primórdios da civilização, para tratamento e cura de enfermidades, o que propiciou uma das bases mais importantes para o nascimento da medicina. Estas têm contribuído significativamente, para o fortalecimento da indústria farmacêutica, por meio do isolamento de substâncias bioativas, cuja complexidade de muitas estruturas químicas inviabilizaria, técnica e economicamente, a síntese orgânica de tais substâncias.

Muitas das propriedades terapêuticas das plantas são relatadas pela população, as quais são confirmadas, em sua maioria, nos estudos científicos, comprovando a importância da pesquisa etnofarmacológica. Tais propriedades propiciaram o desenvolvimento de vários medicamentos, sejam estes obtidos por síntese a partir de molécula protótipo ou por meio de isolamento, algumas vezes, biomonitorado. Devido a todos estes aspectos, percebe-se um interesse crescente na utilização e na pesquisa de plantas medicinais, objetivando fins terapêuticos, aliadas à boa aceitabilidade destes produtos no mercado farmacêutico e às altas cifras que circundam a comercialização de fitomedicamentos, verificadas na última década. De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como, por exemplo, botânica, farmacologia e fitoquímica que, juntas, enriquecem os conhecimentos sobre a flora brasileira.

A eficiência terapêutica dessas plantas está relacionada ao teor de princípio ativo. Portanto, a carência de informações científicas, em contraste com a rica diversidade biológica do Brasil, deve incentivar pesquisas sobre plantas medicinais não somente nos âmbitos farmacológico e químico, mas também fisiológicos do crescimento, desenvolvimento e fitotécnicos da produção.

O teor desses compostos, acumulados em diferentes partes do vegetal, está sob controle genético, porém, pode ser alterado pela influência de fatores externos ao organismo, como fertilidade do solo, umidade, intensidade de luz, temperatura, poluição atmosférica e do solo. Entretanto, há uma insuficiência de estudos sobre como os diferentes fatores ambientais, principalmente a luz, influenciam a fisiologia das plantas medicinais e, particularmente, a síntese de compostos secundários.

Diante da necessidade de aprofundar os conhecimentos dos recursos naturais brasileiros e seguindo a orientação da Organização Mundial de Saúde (OMS) aos países membros, de desenvolver pesquisas da flora medicinal, selecionaram-se para estudo as espécies *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker, da família Asteraceae. Essas espécies são conhecidas vulgarmente como guaco, coração-de-jesus, guaco-liso, guaco-cheiroso, cipó-caatinga e erva-de-cobra, que vêm despertando grande interesse na comunidade científica, devido aos promissores resultados químicos e biológicos.

Há muito tempo a medicina popular utiliza o guaco (*Mikania glomerata* e *Mikania Laevigata*) para problemas respiratórios. Em 1942, a primeira Farmacopéia Brasileira, escrita por Pio Correa, já recomendava o uso da erva para chás e xaropes expectorantes, graças à sua riqueza em cumarina.

O interesse pelas duas espécies de guaco, além de seu largo uso popular, deve-se ao fato de serem semelhantes, mas com propriedades diversas. A *M. laevigata* tem mais atividade antiulcerogênica devido à maior concentração de seu princípio ativo, a cumarina, que foi testada isoladamente. Já a *M. glomerata* apresenta melhores resultados para as atividades antimicrobianas.

A maioria dos trabalhos sobre o guaco está relacionada aos estudos farmacológicos, o que deixa lacunas, principalmente no que se refere aos fatores ambientais que agem sobre a fisiologia do desenvolvimento e do metabolismo.

Portanto, neste trabalho, o objetivo foi avaliar o efeito da qualidade de luz, com o uso de malhas coloridas, sobre os aspectos do desenvolvimento vegetativo, anatômico e fitoquímico de plantas jovens de duas espécies de guaco.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da família Asteraceae

A família Asteraceae é o grupo sistemático mais numeroso dentro das Angiospermas, compreendendo cerca de 1.100 gêneros, aproximadamente 25.000 espécies e 13 tribos de ampla distribuição, bem representadas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (Barroso, 1991; Joly, 1991). São plantas de aspecto extremamente variado, incluindo, principalmente, pequenas ervas ou arbustos e, raramente, árvores (Heywood, 1993). Cerca de 98% dos gêneros são constituídos por plantas de pequeno porte e são encontrados em todos os tipos de habitats, principalmente nas regiões tropicais montanhosas na América do Sul.

Plantas dessa família são extensivamente estudadas quanto à sua composição química e atividade biológica, tendo algumas delas proporcionado o desenvolvimento de novos fármacos e inseticidas, entre outros (Zomlefer, 1994). Dentre as inúmeras plantas da família Asteraceae utilizadas na medicina caseira estão as espécies do gênero *Mikania*, conhecidas popularmente como guaco, com ação em problemas respiratórios, usadas também como antiinflamatório e antialérgico. Diversos trabalhos científicos realizados com espécies da família Asteraceae isolaram uma variedade de metabólitos secundários, com destaque para os flavonóides, alocados como importantes marcadores

quimiotaxonômicos, além de sua reconhecida importância para a medicina, no tratamento e na prevenção de várias doenças (Harborne, 2000).

2.2 Descrição botânica e importância terapêutica das espécies

O gênero *Mikania*, o maior da tribo Eupatorieae, família Asteraceae, é composto de, aproximadamente, 450 espécies, distribuídas em regiões tropicais da América, África e Ásia. No Brasil, o gênero, com quase 200 espécies, ocorre de Norte a Sul, tendo sua principal área de dispersão nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (Pereira, 1997; Ritter, 1992).

As principais espécies medicinais pertencentes ao gênero *Mikania* encontram-se na seção Globosae Robinson. Duas das espécies brasileiras dessa seção são *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker (Figura 1), as quais caracterizam-se, do ponto de vista químico, pela presença freqüente em sua composição de terpenóides, cumarinas e flavonóides. A presença do óleo essencial é muito comum, sendo, principalmente, produzido no interior de bolsas secretoras ou canais secretores em mistura com resinas (Oliveira et al., 1999). A espécie mais utilizada para fins medicinais é *Mikania glomerata* Sprengel que, assim como *Mikania hirsutissima* DC, foi oficializada como fitofármaco na primeira edição da Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil (Silva, 1929 citado por Oliveira et al., 1999). A *Mikania glomerata* é a espécie mais estudada e dela existem muitos dados sobre a composição química e seu princípio ativo.



FIGURA 1. Aspecto visual de uma planta adulta de *Mikania glomerata* (A) e *Mikania laevigata* (B). UFLA, Lavras, MG, 2006.

O guaco brasileiro é encontrado nas bordas da Mata Atlântica, em altitude de até 800 metros, e vegeta em locais semi-sombreados, mas vai bem a pleno sol. É uma planta trepadeira, de ciclo perene e nativa da América do Sul, habitando as margens das matas litorâneas (em condições de sombreamento parcial) nas encostas da Serra do Mar. É de clima subtropical, quente e úmido, devendo-se evitar regiões de clima frio. É pouco exigente em solo, preferindo os argilo-arenosos ou argilosos, bem drenados e com elevado teor de matéria orgânica. Possui ramos lenhosos, estriados e glabros, com folhas largas e pecioladas, cordiformes deltóides, 5-7 nervuras, glabras, panículas tirsóides, inflorescência em capítulos sésseis, reunidos em glomérulos glamosos ou oblongos no ápice dos ramos, flores pequenas e brancacentas; brácteas involucrais com base dilatada, ápice obtuso, ciliado, corola infundibuliforme, limbo maior que o tubo e fruto do tipo aquênio (Corrêa, 1984). Florescem de agosto a outubro, sendo suas flores visitadas por *Apis mellifera* e várias espécies de Lepdoptera.

M. laevigata Schultz Bip. Ex Baker assemelha-se a *M. glomerata* Sprengel, mas é distinta pelas folhas que, nesta última, se apresentam

pronunciadamente lobadas, enquanto que a *M. laevigata* apresenta folhas simples, opostas, ovadas e oblongo-lanceoladas, de base obtusa e ápice agudo, de até 15 cm de comprimento e 7 cm de largura, com três nervuras bem evidentes, pecioladas, carnosas-coriáceas, verde-brilhantes na face superior, mas pálidas na inferior (Simões, 1998). Outra diferença que pode ser visualizada entre estas duas espécies vegetais se refere à época de floração, que é no mês de janeiro, para *M. glomerata* e no mês de setembro, para *M. laevigata* (Moraes, 1997).

De acordo Oliveira et al. (1994), a epiderme superior dessas duas espécies de guaco possui células poligonais de parede levemente curvas, enquanto que, na inferior, a parede das células é ondulada. Os estômatos são do tipo paraestomatais e se encontram, exclusivamente, na epiderme inferior. Ambas as epidermes possuem pêlos glandulosos unisseriados, pluricelulares, recurvados, sendo, porém, mais freqüentes na epiderme inferior. O mesofilo é heterogêneo, assimétrico, formado na parte superior por uma ou duas camadas de células paliçádicas, e na inferior, por parênquima lacunoso, formado por três camadas de células arredondadas ou elípticas.

Popularmente, o guaco é uma das plantas medicinais mais consumidas, utilizado, principalmente, no tratamento de afecções respiratórias, com ação broncodilatadora. A cumarina é uma das substâncias associadas a esse efeito.

A cumarina exala um odor característico após a folha ser esfregada, fragmentada, seca ou fervida. Com fins medicinais, a planta é empregada, principalmente, como broncodilatador e expectorante, sendo útil em afecções do aparelho respiratório (gripe, tosse, “ronqueira”, bronquite e asma). Também é empregada em reumatismos, nevralgias e como sudorífero, febrífugo, depurativo e cicatrizante (Low et al., 1999).

Segundo Lopes et al. (1997), a cumarina é a única substância da tintura hidroalcoólica do guaco que apresenta atividade relaxante significativa sobre a

musculatura lisa respiratória. Em relatório da Central de Medicamentos (CEME), do Ministério da Saúde, consta que o xarope de guaco possui: completa inocuidade e segurança, ação broncodilatadora e efeito anti-tussígeno. Recentemente, outras atividades terapêuticas foram evidenciadas por estudos fitoquímicos e farmacológicos da *M. laevigata* conduzidos no CPQBA-UNICAMP (Rehder, 2002). Entre estas outras atividades estão: efeito anticâncer (*in vitro*), efeito antiúlcera gástrica e atividade preventiva de cáries e placas bacterianas dos dentes.

Embora o guaco seja utilizado há muitos anos no Brasil, não se tem informação de cultivos em larga escala ou de genótipos selecionados. Recentemente, com os resultados das pesquisas farmacológicas indicando a cumarina como provável princípio ativo terapêutico, obtiveram-se avanços nos trabalhos de seleção. No CPQBA-UNICAMP, onde se conduzem ensaios sobre o melhoramento genético da espécie, alguns genótipos vem sendo caracterizados quanto à produção de biomassa e ao teor de cumarina. O fato da *M. laevigata* ser de ciclo perene e aceitar relativamente bem a propagação vegetativa (por estaquia) facilita a obtenção de populações homogêneas, por meio da clonagem. Assim, um minucioso trabalho de avaliação de genótipos pode resultar em populações de alto rendimento, como já ocorre no CPQBA.

O teor e os componentes do óleo essencial de guaco (*M. glomerata* Sprengel), proveniente de Bragança Paulista, SP, foram estudados por Oliveira et al. (1999). Os autores obtiveram um rendimento extrativo de óleo essencial, na planta fresca e em florescimento, de 0,26% (massa/volume). Os principais componentes identificados neste óleo essencial e os respectivos percentuais estão descritos na Tabela 1.

TABELA 1. Constituintes químicos do óleo essencial de guaco.

Constituinte	teor (%)	Constituinte	teor (%)	Constituinte	teor (%)
α -pineno	7,97	α -copaeno	0,51	Biciclogermacreno	9,17
β -pineno	5,18	β -bourboneno	0,40	α -mureleno	0,74
mirceneno	11,35	β -elemeno	0,99	γ -cadineno	0,86
Limoneno	1,02	<i>trans</i> -cariofileno	5,62	\blacktriangle -cadineno	2,57
linalol	0,36	aromadendreno	0,91	Germacreno B	2,02
terpinen-4-ol	0,39	humuleno	1,17	Espatuleno	5,27
\blacktriangle -elemeno	1,78	β -cubebeno	17,94		

Fonte: Oliveira et al. (1999).

Diversos métodos analíticos para o doseamento da cumarina e do ácido cauneróico são descritos por Vilegas et al. (1997). Entretanto, Celeghini et al. (2001) estudaram vários métodos de extração de cumarina de folhas de guaco, utilizando extratos hidroalcoólicos, sendo: maceração, maceração com ultra-som, infusão e extração por fluido supercrítico. Estes autores analisaram o extrato obtido por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As concentrações de cumarina foram de 696,4, 656,2 e 393,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, para os métodos de extração por maceração, maceração com ultra-som e infusão. Apesar de não haver diferença estatística entre os métodos de extração por maceração (7 dias) e maceração com ultra-som (20 minutos), os autores concluíram que o melhor método para extração foi o último, devido ao curto tempo necessário para o processo. A alíquota obtida pelo método de extração com fluido supercrítico não pôde ser injetada diretamente, pois tinha alto conteúdo de clorofila, e a remoção total não foi possível.

Segundo Rehder et al. (1998), o processo de secagem de guaco (*M. laevigata*) altera o teor de cumarina do produto seco em relação às folhas frescas. Quando frescas, as folhas possuíam teor significativamente superior, ou seja, 1,14%, comparado com rendimentos de 0,19% e 0,69%, quando secas à temperatura de 30°C, por 4 dias e 45°C durante um dia, respectivamente.

Com relação ao fotoperíodo e às condições de luminosidade, Castro et al. (2006) verificaram que diferentes fotoperíodos alteraram os teores de cumarina nas folhas e caules de *M. glomerata*, tendo os maiores rendimentos sido obtidos em fotoperíodo de 16 horas. Em relação às condições de sombreamento, não foi detectada diferença significativa, à 5% de probabilidade, nos teores de cumarina, tanto na folha como no caule.

Pereira et al. (2000) avaliaram o conteúdo de cumarina de extratos obtidos da parte aérea de guaco, em função da época de coleta. Também avaliaram o conteúdo de cumarina de extratos obtidos de diferentes partes da planta, em folhas coletadas de diferentes posições do ramo, em plantas com diferentes idades e em diferentes horários de coleta. Os autores atribuem a alta concentração de cumarina, observada próximo ao ápice do ramo, ao fato de o tecido meristemático ser o local de síntese dessa substância, então translocada a outras partes da planta.

O teor de cumarina de *M. laevigata* cultivada a pleno sol no CQPBA-UNICAMP foi de 1,13% e de 0,68%, quando cultivada à sombra. Nos meses de maior comprimento do dia, culminando no solstício de verão (maior fotoperíodo) no hemisfério Sul, 22 de dezembro, verificou-se maior teor de cumarina. De fato a cumarina, bem como os flavonóides de modo geral, é estimulada pela radiação ultravioleta (UV), caracterizando uma importante função ecológica de proteção contra estes raios.

2.3 Óleos essenciais

O conhecimento sobre óleos essenciais de plantas data de alguns séculos antes da Era Cristã. As referências históricas de obtenção e utilização desses óleos estão ligadas, originalmente, aos países orientais, com destaque para Egito, Pérsia, Japão, China e Índia. A evolução de conhecimentos técnicos sobre os óleos essenciais deu-se em meados do século XVIII, quando se iniciaram os estudos para suas caracterizações químicas. Atualmente, é bastante grande o número de plantas conhecidas para produção de óleos essenciais em bases econômicas. Tal ocorrência vai desde plantas trepadeiras, como é o caso do guaco, até plantas de porte arbóreo, como, por exemplo, o eucalipto (Vitti & Brito, 2003).

O interesse do homem pelos óleos essenciais está baseado na possibilidade de obtenção de compostos aromáticos, os quais, de uma forma ou de outra, fazem parte do nosso dia-a-dia. Muitos desses compostos são atualmente obtidos sinteticamente, por razões econômicas, por dificuldades na continuidade na obtenção das plantas produtoras, bem como pelo interesse na obtenção de novos componentes aromáticos (Martins et al., 2003). Contudo, a busca pelo naturalismo tem feito crescer a demanda pelos produtos originais obtidos diretamente das plantas.

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, óleos etéreos ou simplesmente essências, constituem os elementos voláteis contidos em vários órgãos das plantas e assim são denominados devido à composição lipofílica, diferente da composição glicerídica dos verdadeiros óleos e gorduras. As denominações dadas a estes óleos derivam de algumas de suas características físico-químicas, como, por exemplo, a de serem, geralmente, líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente. Estão associados a várias funções necessárias à sobrevivência do vegetal em seu ecossistema, exercendo papel

fundamental na defesa contra microrganismos e predadores. Na prática médica popular, os óleos essenciais têm uma larga tradição de uso (Simões & Spitzer, 2003).

A constituição química dos óleos essenciais é muito complexa, chegando a algumas centenas de compostos com diferentes funções orgânicas. Os terpenos, derivados da rota do ácido mevalônico, e os fenilpropanóides, derivados da rota do ácido chiquímico, são as classes mais comumente encontradas. O perfil terpênico possui, normalmente, substâncias constituídas de moléculas de dez e de quinze carbonos (monoterpenos e sesquiterpenos), mas, dependendo do método de extração, da composição da planta e do ambiente de cultivo, terpenos menos voláteis podem aparecer na composição do óleo essencial (Braga, 1971).

Os terpenóides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo este termo empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno. A unidade isoprênica, por sua vez, origina-se a partir do ácido mevalônico (Simões & Spitzer, 2003). Os compostos terpênicos mais freqüentes nos óleos essenciais são os monoterpenos (cerca de 90% dos óleos essenciais) e os sesquiterpenos. Outros terpenóides, como os diterpenos, são encontrados apenas em óleos essenciais extraídos com solventes orgânicos. Os diterpenos só são obtidos por solventes orgânicos devido à alta temperatura de volatilização desses compostos.

Outra característica importante é o aroma agradável e intenso da maioria dos óleos voláteis, sendo, por isso, também chamados de essências. São solúveis em solventes orgânicos pouco polares, como éter, recebendo, por isso, a denominação de óleos etéreos (Gottlieb et al., 1987). Em água, os óleos voláteis apresentam solubilidade limitada, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são denominadas hidrolatos. Outras de suas características são: sabor: geralmente ácido e picante; cor: quando recentemente extraídos, são

geralmente incolores ou ligeiramente amarelados; são poucos os óleos que apresentam cor, como o óleo volátil de camomila, de coloração azulada, pelo seu alto teor em azulenos; estabilidade: em geral, os óleos voláteis não são muitos estáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais; a maioria dos óleos voláteis possui índice de refração e é opticamente ativa, propriedades estas usadas na sua identificação e no controle da qualidade.

Os constituintes dos óleos voláteis variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e até compostos com enxofre. Na mistura, tais compostos estão em diferentes concentrações. Normalmente, um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades (traços). Por exemplo, o 1,8-cineol (eucaliptol) é o principal composto do óleo de eucalipto e, geralmente, seu teor é em torno de 80%. Entretanto, esta mesma substância foi detectada no óleo de bergamota, numa concentração 40.000 vezes menor do que no óleo de eucalipto, ou seja, em torno de 0,002%. Assim, nesses casos, diz-se que este composto é um constituinte traço do óleo de bergamota (Simões & Spitzer, 2003).

Dependendo da família, os óleos voláteis podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, como pêlos glandulares (Lamiaceae), células parenquimáticas diferenciadas (Laureaceae, Piperaceae, Poaceae), canais oleíferos (Apiaceae) e em bolsas lisígenas ou esquizogênica (Pinaceae, Rutaceae). Os óleos voláteis podem estar presentes em certos órgãos, como nas flores, folhas, cascas, madeira, raízes, rizomas, frutos ou sementes. Embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos voláteis, sua composição pode variar segundo a localização.

Óleos voláteis obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta podem ter composição química, caracteres físico-químicos e odores bem distintos. Cabe

lembrar que a composição química de um óleo volátil, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, estágio de desenvolvimento, condições climáticas e de solo (Simões & Spitzer, 2003).

Em geral, as espécies variam o teor de princípio ativo de acordo com a época, podendo esta variação ocorrer tanto no período de um dia como em épocas do ano (Reis et al., 2003).

O grande número e a diversidade de substâncias incluídas nos óleos essenciais é que determinam a ampla variedade de ações farmacológicas. As propriedades dos óleos são variadas: antivirótica, antiespasmódica, analgésica, bactericida, cicatrizante, expectorante, relaxante, vermífuga, etc. O mentol, da hortelã (*Mentha piperita*), tem ação expectorante e anti-séptica; o timol e o carvacrol, encontrados no tomilho (*Thymus vulgaris*) e no alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*), são anti-sépticos; o eugenol, do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), é um anestésico local e analgésico e o ascaridol, encontrado na erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides*), é vermífugo. Em alguns casos, os óleos podem até aumentar a produção de glóbulos brancos. Certos óleos essenciais atuam aumentando secreções do aparelho digestivo, o que justifica a utilização como digestivos. Outros são expectorantes, por estimular a secreção dos brônquios, como o eucaliptol. Substâncias, como eucaliptol e mentol, eliminadas pelas vias pulmonares e urinárias, são tidas como anti-sépticos dos respectivos aparelhos. Altas doses de óleos essenciais podem provocar, em geral, nefrites e hematúrias (Martins et al., 2003).

Comercialmente, os óleos essenciais são usados para conferir aromas e odores a diversos produtos alimentícios, perfumaria e como medicamentos analgésicos, anti-sépticos, sedativos, expectorantes, estimulantes, etc. (Craveiro et al., 1981). Além disso, a composição química do óleo essencial tem sido

usada na taxonomia e filogenia, como observou Gonçalves (2001), em *Ocimum selloi*.

Sem dúvida, os óleos essenciais encontram sua maior aplicação biológica como agentes antimicrobianos. Esta capacidade, presente na grande maioria destes compostos, de certa maneira representa uma extensão do próprio papel que exercem na planta, defendendo-as de bactérias e fungos fitopatogênicos (Janssen et al., 1987).

Recentemente têm sido relatados fatores ambientais capazes de afetar a produtividade, composição e quantidade dos constituintes dos óleos essenciais e dentre eles, radiação, qualidade de luz, temperatura e estresse hídrico são bastante relevantes (Gonçalves, 2001).

2.4 Cumarinas

As cumarinas são abundantemente distribuídas no reino vegetal e são derivadas da lactona do ácido α -hidroxicinâmico, usualmente conhecido como cumarina. O representante mais simples é a 1,2-benzapirona (Figura 3) Muitas pesquisas evidenciam que as cumarinas têm várias atividades biológicas. As mais comuns são atividades anti-neoplásica e efeitos narcótico, hemostático, sedativo, espasmolítico, anticoagulante, analgésico, regulador hormonal e vasodilatador, além de inibidor da carcinogênese. Além disso, as cumarinas possuem, ainda, efeito regulador que, em concentrações diminutas da substância, promove o crescimento vegetativo (Pereira, 2000).

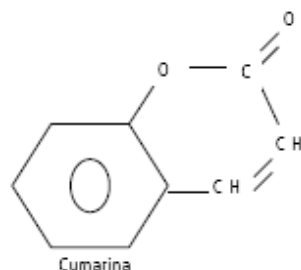


FIGURA 2. Estrutura química das cumarinas. Adaptado de Soares (2002). UFLA, Lavras, MG, 2006.

Cerca de 1.300 cumarinas já foram isoladas de fontes naturais. Suas propriedades farmacológicas, bioquímicas e aplicações terapêuticas dependem de seus padrões de substituição. As cumarinas são derivadas do metabolismo da fenilalanina, sendo um dos seus primeiros precursores o ácido *p*-hidroxicinâmico (ácido *p*-cumárico), que é hidroxilado na posição C-2. (*orto*-hidroxilação) (Kuster & Rocha, 2003).

De acordo com Martins et al. (2002), as cumarinas são heterosídeos que têm diversas formas básicas: metoxicumarina, furanocumarina e piranocumarina. As Gramineae e Umbelliferae são particularmente ricas em cumarinas, que podem ocorrer em folhas, frutos, sementes e raízes. Podem apresentar odor que caracteriza uma planta, como ocorre com o guaco. Um dos metabólitos, o dicumarol, é um poderoso anticoagulante, usado na alopatia, em pequenas dosagens, como base para medicamentos contra a trombose e como veneno para ratos em grandes doses. Tem, ainda, a ação antibacteriana. Algumas cumarinas podem sensibilizar a pele sob ação dos raios ultravioleta (presentes em folhas de figueira), outras, em função dessa propriedade, são utilizadas no tratamento do vitiligo, por estimularem a pigmentação da pele.

As cumarinas encontram-se distribuídas, predominantemente, em angiospermas, sendo as estruturas mais simples as mais frequentes. Furanocumarinas e piranocumarinas lineares e angulares, lignocumarinas, cumarinas diméricas e triméricas são encontradas somente em certas famílias, notadamente as mais primitivas. As famílias mais citadas na literatura, pelo conteúdo em cumarinas, são: Apiaceae, Rutaceae, Asteraceae, Fabaceae, Oleaceae, Moraceae e Thymeleaceae. Especificamente com relação às furanocumarinas, estas já foram isoladas e identificadas nas seguintes famílias: Amaranthaceae, Asteraceae, Cyperaceae, Dipsacaceae, Goodeniaceae, Guttiferae, Leguminosae, Moraceae, Pittosporaceae, Rosaceae, Rutaceae, Samydeaceae, Solanaceae e Apiaceae (Evans, citado por Kuster & Rocha, 2003).

Muitas das cumarinas simples possuem odor característico, destacando-se a cumarina propriamente dita (1,2-benzopirona), que é amplamente utilizada como aromatizante em alimentos industrializados. No entanto, com base em dados sobre toxicidade hepática, verificada em ratos, a agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) a classificou como substância tóxica, passando a considerar sua adição em alimentos como adulteração. Por outro lado, a cumarina, pelas vantagens decorrentes de seu odor acentuado, estabilidade e baixo custo, continua a ser amplamente utilizada nas indústrias de produtos de limpeza e cosméticos (Kuster & Rocha, 2003).

Recentemente, algumas cumarinas com atividade anti-HIV foram identificadas a partir de fontes vegetais. Como exemplo citam-se os calanolídeos A e B, isolados das folhas de uma árvore de floresta tropical, *Calophyllum lanigenum* Miq. var. *austrocoriaceum*, família Guttiferae, encontrada na Malásia. Essas substâncias inibiram a replicação *in vitro* do HIV-1, provavelmente por inibição da atividade enzimática da DNA-polimerase dependente de DNA e da DNA-polimerase dependente de RNA presentes no vírus (Vlietinck et al., 1998; Kuster & Rocha, 2003).

Cumarinas, devido a sua atividade vasodilatadora, podem ser utilizadas no tratamento da impotência masculina. Para que ocorra ereção, as artérias do pênis precisam dilatar-se para aumentar o fluxo de sangue. As cumarinas osthol, imperatorina, xantotoxina e isopinpinelina, em conjunto, exibiram propriedades relaxadoras em *Corpus carvenosum* de coelhos com endotélio intacto. Essas substâncias foram isoladas de frutos de *Cnidium monnieri* (L.) Cusson, uma planta chinesa usada na impotência masculina (Chiou et al., 2001; Kuster & Rocha, 2003).

2.5 Influência da luz na fisiologia das plantas e anatomia foliar

A luz é um importante fator ambiental que desempenha papel relevante no controle dos processos associados ao acúmulo de biomassa (Valio, 2001), contribuindo, de forma inequívoca, para o desenvolvimento da planta, sendo a sua qualidade fator limitante no crescimento vegetal. Entretanto, a palavra luz é também usada para se referir a outras regiões próximas do espectro: ultravioleta (comprimentos de onda menores que a luz visível) e infravermelho (maiores comprimentos de onda) (Apholo & Ballaré, 1995). Em média, 45% da radiação proveniente do sol encontra-se dentro de uma faixa espectral de 380 a 700 nm, a qual é utilizada pelas plantas para a fotossíntese (radiação fotossinteticamente ativa, RFA, frequentemente definida na faixa de 400 a 700nm). Próximo a esta faixa estão os comprimentos curtos de radiação ultravioleta (UV-A, 315-380 nm e UV-B, 280-315 nm) e os comprimentos longos de radiação infravermelha (IV, 750-4000 nm) (Larcher, 2000).

Para as plantas verdes, a luz pode ser tanto fonte de energia no processo de fotossíntese quanto fonte de informação para o fotoperiodismo (comprimento dia/noite), o fototropismo (direção da luz) e a fotomorfogênese (quantidade e qualidade da luz). Nesse contexto, uma resposta primária da planta às alterações

do ambiente luminoso relaciona-se com a emissão de novas folhas estruturalmente modificadas, o que pode acarretar no anormal funcionamento dos vegetais. No caso particular da qualidade da luz, sabe-se que pigmentos distintos absorvem radiação em comprimentos de ondas específicos, desencadeando, nos vegetais, uma série de respostas, tais como alterações na anatomia e diferenciação dos tecidos, alongamento do caule, síntese de pigmentos foliares, acúmulo de carboidratos, alterações nas concentrações de hormônios vegetais, estímulo ou inibição de brotações axilares, entre outras (Morini & Muleo, 2003).

Durante o desenvolvimento da planta, a expressão de muitos genes é afetada pela luz e esta interage com processos endógenos desenvolvidos para modular estas respostas gênicas, freqüentemente agindo por fotorreceptores diferentes (Hopkins, 1995). No entanto, para uma descrição completa da luz incidente em uma planta, torna-se necessária uma caracterização da sua intensidade, duração, qualidade (composição espectral) e direção (localização relativa da fonte e grau de dispersão).

Os efeitos da qualidade da luz sobre o crescimento e o desenvolvimento das plantas se manifestam precocemente, antes de qualquer redução na radiação fotossinteticamente ativa (Ballaré et al., 1987). Isso porque os sinais de luz percebidos pelo fitocromo desempenham função na detecção do nível de competição que as plantas irão encontrar, principalmente quando a competição tende a ser intensa (Schmit & Wulff, 1993). Portanto, a qualidade espectral pode ter efeitos sobre os aspectos fisiológicos, crescimento e desenvolvimento das plantas (Barreiro et al., 1992).

Para otimizar a captação da energia luminosa para a fotossíntese, as plantas desenvolveram uma série de fotorreceptores que regulam seu crescimento e desenvolvimento em relação a presença, quantidade, qualidade, direção e duração da radiação luminosa incidente (Morini & Muleo, 2003).

A adaptação das plantas à luminosidade ambiental depende do ajuste do seu aparelho fotossintético, de modo que a energia radiante disponível seja utilizada de maneira mais eficiente possível. As respostas destas adaptações refletem no crescimento global da planta (Engel & Poggiani, 1991).

As plantas desenvolveram mecanismos sofisticados para detectar alterações ambientais e adaptar seu padrão de desenvolvimento a essas mudanças no ambiente natural, assegurando, assim, sua sobrevivência e reprodução. Sendo fotossintéticas, elas são especialmente sensíveis ao ambiente de luz. Múltiplos fotorreceptores de diversos alcances espectrais que absorvem comprimento de onda na região do ultravioleta, azul, vermelho e vermelho-distante, são utilizados pelas plantas para monitorar constantemente a intensidade de luz, qualidade e duração, no sentido de controlar os diversos processos de seu desenvolvimento (Larcher, 2000).

Em relação ao fitocromo, alta relação de iluminação vermelha e vermelho-distante (V/VD) pode estimular respostas desse pigmento em plantas, incluindo alongação do caule, florescimento e mudanças na condutância estomática bem como na anatomia das mesmas (Boardman, 1977) Além disso, a luz vermelha é importante para o desenvolvimento do aparato fotossintético das plantas, por incrementar o acúmulo de amido em várias espécies de plantas, em virtude de inibir a translocação de fotossintatos para fora das folhas (Saebo et al., 1995). Por outro lado, a luz azul é importante na formação da clorofila (Schuergger et al., 1997), desenvolvimento dos cloroplastos, abertura estomático, síntese de enzimas e ativação do ritmo circadiano e fotomorfogênese (Taiz & Zeiger, 2004).

Apesar da confirmação dos efeitos da qualidade da luz sobre as plantas, inclusive em nível anatômico (Lee et al., 2000; Schuergger et al., 1997), as respostas são muito variáveis em função das espécies (Kim et al., 2004)

necessitando, portanto, do conhecimento de quais porções do espectro estão envolvidas nas respostas de cada planta (McMahon & Kelly, 1995).

A anatomia foliar pode ser grandemente influenciada pela radiação recebida durante o crescimento, uma vez que a folha é um órgão muito plástico e sua estrutura interna adapta-se às condições externas do ambiente. A plasticidade adaptativa é típica das espécies que apresentam amplo potencial de aclimação (Hanba et al., 2002; Schluter et al., 2003).

De acordo com Schluter et al. (2003) e Sims et al. (1998), folhas de árvores crescendo num ambiente de sombra apresentam modificações nas características fotossintéticas, bioquímicas, organização de células do mesófilo e frequência estomática, quando comparadas com folhas crescendo num ambiente de maior irradiância.

Buisson & Lee (1993) estudaram o efeito da qualidade espectral da luz no desenvolvimento de folhas de *Carica papaya* L. Estes autores variaram as condições de sombreamento, simulando a diminuição da intensidade luminosa com ou sem a diminuição da relação do comprimento de onda vermelho: vermelho distante. Quando as plantas desenvolveram-se sob sombreamento acompanhado da diminuição da relação vermelho:vermelho distante houve, em relação aos demais tratamentos, diminuição significativa da espessura foliar, do peso específico da folha, do comprimento das células do parênquima paliçádico, no número de células desse parênquima e na espessura do mesófilo e aumento no teor de clorofila e na largura das células do parênquima paliçádico na parte adaxial. Segundo os autores, o formato cônico das células do parênquima paliçádico favoreceria a disposição mais adequada dos cloroplastos e a absorção mais eficiente da luz em condições de sombreamento intenso.

Segundo Lee et al. (2000), algumas plantas têm plasticidade morfológica em respostas às condições ambientais em que sobrevivem. Variações na estrutura da folha podem afetar algumas funções na planta. Primeiramente, a

densidade estomática, parênquima paliçádico e os espaços no mesofilo podem afetar a resistência a trocas gasosas e também limitar a assimilação fotossintética. Posteriormente, o conteúdo e a distribuição dos pigmentos, influenciados pela anatomia, determinam a eficiência da captura de luz pelas folhas e influenciam na fotossíntese. Os mesmos autores observaram que a qualidade da luz tem efeito desprezível no desenvolvimento dos caracteres anatômicos. Verificaram, ainda, que as interações entre fluxo de fótons fotossintéticos (PPF) e a relação V/VD, geralmente, foram de pequena importância na explicação das variações de características foliares. Apenas o formato das células do parênquima paliçádico, particularmente a sua espessura máxima, foi influenciado pelas condições de luz. Baixas V/VD reduziram moderadamente a espessura das células paliçádicas nas duas espécies de *Hopea* (Lee et al., 2000). Contudo, esses resultados são contraditórios com os poucos reportados na literatura sobre os efeitos significativos da relação V/VD sobre a forma das células paliçádicas.

Voltan et al. (1992) observaram, em seus estudos, que o aumento do sombreamento provocou redução no número de estômatos e na espessura do mesofilo e incremento dos espaços intercelulares; estando essas características relacionadas ao processo fotossintético. Entretanto, Lima Junior et al. (2006) verificaram diferenças no número de estômatos nas plantas de *Cupania vernalis* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento, observando que o aumento no número de estômatos refletiu diretamente na condutância estomática.

O efeito da qualidade de características espectrais da luz no desenvolvimento de folhas de *Carica papaya* L. foi estudado por Buisson & Lee (1993). Neste estudo, os autores variaram as condições de sombreamento, simulando a diminuição da intensidade luminosa com ou sem a diminuição da relação do comprimento de onda vermelho:vermelho distante. Quando as plantas desenvolveram-se sob sombreamento acompanhado da diminuição da relação

vermelho:vermelho distante, houve, em relação aos demais tratamentos, diminuição significativa da espessura foliar, do peso específico da folha, do comprimento das células do parênquima paliçádico, no número de células desse parênquima e na espessura do mesofilo e na largura das células do parênquima paliçádico na parte adaxial.

O entendimento de como as plantas detectam, respondem e se adaptam aos estímulos do ambiente é importante para a melhor exploração agrícola dos genótipos hoje disponíveis. No entanto, esses estudos devem ser realizados de forma que simulem as situações de lavoura, ou seja, em ambiente com radiação natural e plantas crescendo em densidade de cultivo.

A modificação na qualidade da luz é devido à absorção da luz vermelha e não absorção da luz vermelho-distante. Isso proporciona condições variáveis de disponibilidade de radiação nos diferentes extratos de uma comunidade e, dessa forma, é modificada a razão V/VD. Essa razão, percebida pelo caule das plantas, indica a proximidade entre as plantas e induz às alterações na anatomia e à partição de assimilados (Aphalo & Ballaré, 1995). Isso pode ser um dos motivos da modificação de acumulação de massa seca entre os diferentes órgãos, como demonstrado por Wobeto (1994), citado por Almeida et al. (2001), quando comparou o sincronismo nas taxas de acumulação entre o primeiro e o segundo afilhos, em situação de lavoura com diferentes cultivares de aveia.

A modulação fotomorfogênica pela razão V/VD foi observada também em plantas de cevada por Davis & Simmons (1994), demonstrando que estas têm a capacidade de detectar e responder morfológicamente a alterações da qualidade da luz.

Estudos com controle ambiental, realizados entre 1960 e 1970, documentaram o envolvimento do fitocromo (como demonstrado pelo controle fotorreversível V/VD) na regulação das concentrações de clorofila e carotenóides, eficiência fotossintética, concentração de açúcar e ácidos

orgânicos e distribuição de fotoassimilados entre as partes de uma planta em desenvolvimento (folhas, caules e raízes) (Kasperbauer, 1971, Kasperbauer & Peasleu, 1973).

Entretanto, pesquisas têm reportado que a produção e a distribuição de fotoassimilados dentro da planta são influenciadas pela quantidade e pelo balanço espectral (qualidade) da luz capturada pelas plantas no dossel (Hunt et al., 1990; Kasperbauer, 1998; Matheny, 1992), assim como a quantidade da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) recebida pela planta. Entretanto, intensidades de RFA além do ponto de saturação de luz proporcionalmente não aumentam a taxa de fotossíntese.

As respostas apresentadas pelas plantas à variação na disponibilidade de luz costumam envolver, ainda, alterações nas características das folhas relacionadas ao teor de clorofila. Diversos fatores externos e internos afetam a biossíntese de clorofilas; por isso, os seus conteúdos foliares podem variar de maneira significativa. Entre estes fatores, a luz é essencial a sua síntese (Whatley & Whatley, 1982).

2.6 Influência da luz na síntese de óleo essencial e cumarina

A biossíntese de metabólitos secundários é determinada geneticamente, porém, a quantidade e a concentração desses compostos variam acentuadamente em função das condições ambientais. Apresentam-se como importantes fatores ambientais a luz (intensidade, qualidade e fotoperíodo), a latitude, a temperatura (mínima, máxima e média), o solo (propriedades químicas e físicas), os ventos, os macro e micronutrientes e a disponibilidade hídrica. Estes fatores proporcionam respostas diferenciadas nas diversas espécies estudadas, portanto, é necessário considerar as condições ambientais ótimas para a máxima produção de cada espécie.

A luz atua de forma significativa e complexa e influencia no acúmulo e na variedade dos componentes dos óleos essenciais e cumarina, uma vez que afeta, direta ou indiretamente, a produção de fitomassa, a proporção de órgãos e as vias biossintéticas destes metabólitos secundários.

As plantas apresentam diferentes respostas às variações da intensidade de luz, como modificações no teor de cumarinas (Pereira, 1997; Rehder et al., 1988). Além do fator luz que afeta a eficácia de uma planta medicinal, pode-se destacar a influência da fase ontogênica de plantas produtoras de cumarinas e de óleo essencial. Valio & Oniki (1992), citados por Perreira (2000), afirmam que o papel da cumarina na planta ainda não está claro do ponto de vista fisiológico. Pode ocorrer variação nos teores de cumarina e umbeliferona, dependendo do órgão da planta e do estágio de desenvolvimento, sendo que nas folhas maduras de *Justicia pectoralis* Jacq. encontram-se os maiores teores. Entretanto, Pereira (2000) constatou que, nas folhas jovens de *Mikania glomerata*, encontra-se o dobro de cumarina, comparadas às folhas adultas.

De acordo com Pereira (1997), a cumarina está presente em todos os órgãos de *M. glomerata*, porém, em diferentes concentrações. As folhas apresentam maior teor de cumarina (0,5%); flores e caules contêm menor teor, apenas 20% do conteúdo das folhas, enquanto nas raízes o teor encontrado foi ainda menor que o encontrado na parte aérea.

Plantas da espécie *Justicia pectoralis* Jack. desenvolvidas em radiação solar plena apresentaram percentuais de cumarinas totais maiores que as desenvolvidas à sombra (Barros, 1992, citado por Andrade, 2000).

Há uma íntima relação entre a intensidade luminosa e a produção de metabólitos secundários, uma vez que todas as substâncias produzidas pela planta estão envolvidas, direta ou indiretamente, com a fotossíntese. Com relação à cumarina em *Mikania glomerata*, é possível que a luz esteja favorecendo o acúmulo do metabolito secundário. Castro et al. (2006),

comparando somente as folhas de plantas jovens cultivadas nos diferentes tratamentos de radiação na parte superior da planta, observaram que, em pleno sol e 30% de sombreamento, foram obtidos os maiores teores de cumarinas, respectivamente, em relação aos demais tratamentos. Isso, provavelmente, ocorreu devido a alterações morfofisiológicas da folha de *Mikania glomerata* sob diferentes níveis de radiação. Com relação aos fotoperíodos avaliados, os mesmos autores verificaram que os diferentes fotoperíodos estudados influenciaram significativamente os teores de cumarina nas folhas e caules de *Mikania glomerata*. Observaram também menor teor de cumarina nas folhas e caules nos fotoperíodos mais curtos.

Yamaura et al. (1989) observaram aumento na produção de óleo essencial em *Mentha piperita* em condições de alta intensidade luminosa. Em plantas de *Salvia officinalis* crescidas em condição de 45% da luz solar, Li & Craker (1996) verificaram alta concentração e diferenças na composição do óleo essencial em comparação com óleo essencial de sálvia crescida em outras intensidades luminosas. Ventrella & Ming (2000) observaram que os teores do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. foram maiores quando esta espécie foi cultivada sob maior nível de radiação. Na espécie *Ocimum seloi* Benth., em plantas mantidas sob radiação solar plena e sombreamento parcial de 50%, o teor de óleo essencial (0,65%) não diferiu significativamente entre os níveis de radiação solar (Gonçalves, 2001).

Independentemente de sua composição química, os óleos essenciais são sintetizados e armazenados pelas plantas em estruturas anatômicas especializadas, como idioblastos, cavidades, canais e tricomas glandulares .

Apesar da importância da qualidade de luz para as plantas, os estudos limitam-se, ainda, aos aspectos fitotécnicos, como alongamento do caule, inibição ou estímulo de brotações, entre outros e poucas são as pesquisas acerca das respostas anatômicas e fitoquímicas das plantas às mudanças nos

comprimentos de onda. Portanto, está claro, na literatura, que as plantas exibem alto grau fisiológico, morfológico e plasticidade anatômica em respostas às mudanças na qualidade espectral (Schuerger et al., 1997).

2.7 Malhas ChromatiNet

Malhas coloridas têm sido usadas para manipular a qualidade da luz no dossel, visando proteger as plantas da radiação solar excessiva, ventos fortes, tempestades, etc., ou insetos de maneira geral e variação no padrão de desenvolvimento das plantas (Shahak & Gussakovsky, 2004). Estas malhas representam um conceito agrotecnológico novo, que tem como finalidade combinar a proteção física, junto com a filtração diferencial da radiação solar para, especificamente, promover as respostas fisiológicas que são reguladas pela luz.

As malhas coloridas podem diferir na eficiência em transmitir a luz difusa ou dispersa e também na capacidade de espalhar a luz direta que por elas passa, de acordo com as suas propriedades físicas. A dispersão da luz é um importante fator que determina o quanto a luz essencialmente penetra no dossel (Oren-Shamir et al., 2001). A complexidade e a variabilidade da radiação natural, de um lado, e as múltiplas reações de resposta da planta, de outro, tornam difícil prever como uma dada manipulação da luz natural irá afetar respostas vegetativas particulares (Oren-Shamir et al., 2001; Shahak et al., 2004).

Pesquisas sobre manipulação da qualidade de luz são realizadas na maior parte para regiões espectrais do azul, vermelho e vermelho-distante. Geralmente, essas manipulações são realizadas por fontes de iluminação elétrica suplementares, por coberturas coloridas do solo, por telhados fluidos coloridos ou por películas plásticas coloridas (Proctor, 1982; Kasperbauer, 1992;

Rajapakse, 1999). O uso das malhas coloridas funciona como uma nova ferramenta para a manipulação da qualidade de luz.

Resultados encontrados por Antonious & Kasperbauer (2002) indicam que a reflexão da luz pode ter ação direta no sistema de regulação do crescimento natural das plantas entre caules e raízes, como também pode influenciar no rendimento e na composição química de raízes comestíveis. Segundo estes autores, cenouras cultivadas sobre coberturas amarelas têm maior teor de β -caroteno e vitamina C. Esta descoberta sugere que a luz colorida refletida também influencia na melhoria do aspecto, sabor, aroma, conteúdo nutricional e na composição química de frutas e hortaliças.

Alguns estudos comparativos entre malhas coloridas e a malha preta têm demonstrado que a mudança na distribuição espectral da radiação provoca alterações no desenvolvimento vegetativo de plantas. Oren-Shamir (2001) e Shahak et al. (2004) verificaram maior comprimento de ramificações de plantas crescidas sob malhas vermelhas e menor tamanho de plantas sob malhas azuis, em relação à malha neutra (preta).

De acordo com Leite et al. (2002), a maior massa fresca e seca das folhas das variedades de *Phalaenopsis* sp cultivadas sob malha azul parece se dever à qualidade da luz transmitida. Algumas plantas mantêm estômatos abertos ainda que em condições não ideais, se elas são submetidas à luz azul. Este tipo de luz intumesce a célula-guarda do estômato mantendo o ostíolo aberto, ou seja, esse tipo de luz mantém os estômatos abertos (Sirivastava & Zeiger, 1995). A luz azul também influencia a biossíntese de clorofila e outros pigmentos pela regulação da expressão de determinados genes (Tsunoyama et al., 2002). Isso pode explicar o maior vigor foliar encontrado para todas as variedades tratadas com malha azul.

Nas malhas coloridas, as quais são unidas mais densamente para atingir o mesmo efeito de sombreamento, uma fração maior da luz solar passa através

das linhas, sendo seletivamente filtrada (Oren-Shamir et al., 2001). Segundo estes mesmos autores, a malha azul transmite luz em uma banda larga em 470 nm, além de outros picos na região do vermelho-distante e infravermelho (acima de 750 nm), enquanto a malha vermelha possui uma maior transmitância em comprimentos de onda acima de 590 nm e um pico menor em torno de 400 nm

O conhecimento das alterações ocorridas nas plantas em virtude da exposição a determinados comprimentos de onda pode fornecer subsídios ao melhor controle do ambiente luminoso por meio da alteração na composição espectral pelo uso de malhas coloridas

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L. P.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; ZANELA, S. M.; VIEIRA, C. V. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 83-88, jan./fev. 2004.

ALMEIDA, M. L.; MUNDSTOCK, C. M. O afilhamento da aveia afetado pela qualidade da luz em plantas sob competição. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 393-400, maio/jun. 2001.

ANDRADE, F. M. C. “**Homeopatia no crescimento e na produção de cumarina em chambá *Justicia pectoralis* Jacq**”. 2000. 214 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

ANTONIOUS, G. F.; KASPERBAUER, M. J. Color of light reflected to leaves modifies nutrient content of carrot roots. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 4, p. 1211-1216, July/Aug. 2002.

APHALO, P. J.; BALLARÉ, C. L. On the importance of information-acquiring systems in plant-plant interactions. **Functional Ecology**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 5-14, Feb. 1995.

BALLARÉ, C. L.; SÁNCHEZ, R. A.; SCOPEL, A. L.; CASAL, A. L.; GHERSA, C. M. Early detection of neighbour plants by phytochrome perception

of spectral changes in reflected sunlight. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 56, n. 7, p. 551-557, Sept. 1987.

BARREIRO, R.; GUIAMET, J. J.; BELTRANO, J.; MONTALDI, E. R. Regulation of the photosynthetic capacity of primary bean leaves by the red: far red ratio and photosynthetic photon flux density of incident light. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 85, n. 1, p. 97-101, May 1992.

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiosperma do Brasil**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1991. v. 3.

BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 28, p. 355-377, 1977.

BRAGA, N. C. **Os óleos essenciais do Brasil: estudos econômicos**. Rio de Janeiro: Instituto de óleo, 1971, 158 p.

BUISSON, D.; LEE, D. W. The developmental responses of papaya leaves to simulated canopy shade. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 80, n. 8, p. 947-952, Aug. 1993.

CASTRO, A. H. F.; YOUNG, M. C. M.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, J. D. Influence of photoperiod on the accumulation of allantoin in comfrey plants. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 1, p. 49-54, abr. 2001.

CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; MALTA, M. R.; CARDOSO, M. G.; SILVA, F. A. M. Coumarin Contents in young *Mikania glomerata* Plants (Guaco). under different Radiation Levels and Photoperiod **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 25, n. 3, p. 387-92, 2006.

CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. Extraction and quantitative HPLC analysis of coumarin in hydroalcoholic extracts of *Mikania glomerata* Spreng. (.Guaco.) leaves. **Journal Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 12, n. 6, p. 706-709, Nov./Dec. 2001.

CHIOU, W. F.; HUANG, Y. L.; CHEN, C. F.; CHEN, C. C. Vasorelaxing effect of coumarins from *Cnidium monnieri* on rabbit corpus cavernosum. **Planta Médica**, Stuttgart, v. 67, n. 3, p. 282-284, Apr. 2001.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ed. Ministério da Agricultura: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. v.3, p. 518.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: EUFC, 1981. 210 p.

DAVIS, M. H.; SIMMOM, S. R. Far-red light reflected from neighbouring vegetation promotes shoot elongation and accelerates flowering in spring barley plant. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 17, n. 7, p. 829-836, July 1994.

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**, Londrina, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

GOTTLIEB, O. R.; SALATINO, A. Função e evolução de óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 39, n. 8, p. 707-716, ago. 1987.

GONÇALVES, L. A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth (Lamiaceae)**. 2001. 95 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GONÇALVES, L. A.; BARBOSA, L. C. A.; AZEVEDO, A. A.; CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu - SP, v. 6, n. 1, p. 8-14, 2003.

HANBA, Y. T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in Acer species differing in light demand. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 8, p. 1021-1030, Aug. 2002

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A.; Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, Oxford, v. 55, n. 6, p. 481-504, Nov. 2000.

HEYWOOD, V. H. **Flowering plants of the world**. New York: Oxford University Press, 1993.

HUNT, P. G.; MATHENY, T. A.; KASPERBAUER, M. J. Influence of Bradyrhizobium japonicum strain and far-red/red canopy light ratios on nodulation of soybean. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 6, p. 1306-1308, Nov./Dec. 1990.

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 10. ed. São Paulo: Cia Editora Nacional, 1991.

KASPERBAUER, M. J. Phytochrome regulation of morphogenesis in green plants: from the Beltsville spectrograph to colored mulch in the field. **Photochemistry and Photobiology**, Augusta, v. 56, n. 5, p. 823-832, Nov. 1992.

KASPERBAUER, M. J. Spectral distribution of light in a tobacco canopy and effects of end-of-day light quality on growth and development. **Plant Physiology**, Rockville, v. 42, n. 6, p. 775-778, 1971.

KASPERBAUER, M. J.; HUNT, P. G. Far-red light affects photosynthate allocation and yield of tomato over red mulch. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 4, p. 970-974, July/Aug. 1998.

KASPERBAUER, M. J.; PEASLEE, D. E. Morphology and photosynthetic efficiency of tobacco leaves that received end-of-day red or far-red light during development. **Plant Physiology**, Rokville, v. 52, n. 5, p. 440-442, 1973.

KIM, S-J.; HAHN, E-J.; HEO, J.; PAEK, K-Y. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. **Scientia Horticulturae**, v. 101, n. 1/2, p. 143-151, May 2004.

KUSTER, R. M.; ROCHA, L. M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C.M.O et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003. p. 537-556.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RIMA Artes e Textos, 2000, p. 531.

LI, Y.; CRAKER, L. E.; POTTER, T. Effect of light on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 426, p. 419-426, 1996.

LEE, D. W.; OBERBAUER, S. F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMED, H.; YAP, S. K. Effects of irradiance and spectral

quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian Hopea (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, Colubus, v. 87, n. 4, p. 447-455, Apr. 2000.

LEITE, C. A.; ITO, R. M.; GERALD, L. T. C.; FAGNANI, M. A. **Manejo do espectro de luz através de malhas coloridas visando o controle do crescimento e florescimento de *Phalaenopsis* sp.** 2002. Disponível em: <<http://www.polysack.com/index.php>>. Acesso em: 2006.

LIMA JR., E. C.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M. Physioanatomy traits of leaves in young plants of *Cupania vernalis* camb. subjected to different shading levels. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 33-41, jan./fev. 2006.

LOPES, M. L. A. T.; CARVALHO, L. R. M.; SOUZA, M. A. V. Efeito do Guaco (*Mikania glomerata*) sobre o edema pedal em comundongos induzido pelo veneno de *Bothrops jararaca*. In: FESBE: Reunião Anual da Federação de Sociedade de Biologia Experimental, 1997, Caxambu. **Resumos...** Caxambu, 1997. p. 190.

LOW, T.; RODD, T.; BERESFORD, R. **Segredos e virtudes das plantas medicinais**. Editora Reader's Digest, 1999. 416 p.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas medicinais. 4. ed. Viçosa: UFV, 2003. p.220.

MATHENY, T. A.; HUNT, P. G.; KASPERBAUER, M. J. Potato tuber productions in response to reflected light from different colored mulches. **Crop Science**, Madison, v. 32, n. 4, p. 1021-1024, July/Aug. 1992.

McMAHON, M. J.; KELLY, J. W. Anatomy and pigments of chrysanthemum leaves developed under spectrally selective filters. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 64, n. 3, p. 203-209, Nov. 1995.

MORAES, M. D. A. **Família Asteraceae na planície litorânea de Pianguaba Município de Ubatuba**. 1997. Tese (Doutorado) - Universidade estadual de Campinas, Campinas.

MORINI, S.; MULEO, R. Effects of light quality on micropropagation of woody species. In: JAIN, S. M.; ISHII, K. **Micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 3-35.

OLIVEIRA, F.; RODRIGUES, R. F. O.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.; O óleo essencial de de *Mikania glomerata* Sprengel - o Guaco oficial brasileiro. **LECTA**, Bragança Paulista, v. 17, n. 1, p. 21-26, 1999.

OLIVEIRA, F.; SANTOS, M. L.; GARCIA, L. O. Morfologia externa das partes aéreas e anatomia foliar das espécies brasileiras de *Mikania* secção globosae Robinson - visão farmacognóstica. **LECTA**, Bragança Paulista, v. 12, n. 1, p. 23-65, 1994.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E. E.; SHPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; OVADIA, R.; GILLER, Y. E.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum* **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May. 2001.

PEREIRA, A. M. S. **Propagação e co-cultivo de células como fatores predisponentes a produção de cumarina em *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco)**. 1997. 82 p. Tese (Doutorado em Agricultura) - Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, SP.

PEREIRA, A. M. S.; CÂMARA, F. L. A.; CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M.; FRANÇA, S. C. Seasonal variation in coumarin content of *Mikania glomerata*. **Journal of Herbs Spices e Medicinal Plants**, Binghamton, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2000.

PROCTOR, J. T. A. Color stimulation in attached apples with supplementary light. **Can. J. Canadia Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 54, n. 3, p. 499-503, 1982.

RAJAPAKSE, N. C.; YOUNG, R. E.; MCMAHON M. J.; OI, R. Plant height control by photoselective filters: current status and future prospects. **Horttechnology**, Alexandria, v. 9, n. 4, p. 618-624, 1999.

REHDER, V. L. G.; RODRIGUES, M. V. N.; MELLO, L. V.; SANTOS, A. S. Desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação de diterpenos presentes em *Mikania* por LC-DAD. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS, 2002, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá, 2002. 1CD-ROM.

REHDER, V. L. G.; SARTORATO, A.; MAGALHÃES, P. M.; FIGUEIRA, G. M.; JÚNIOR, M.; LOURENÇO, C. M. Variação fonológica do teor de cumarina em *Mikania laevigata* Schultz Bip., ex Baker. In: WORKSHOP DE PLANTAS

MEDICINAIS DE BOTUCATU, 1998, Botucatu. **Anais...** São Paulo: UNESP, 1998. p. 28.

REIS, M. S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003. p. 43-74.

RITTER, M. R.; BAPTISTA, L. R. M.; MATZENBACHER, N. I. Asteraceae. Gênero Mikania Willd. Secções Globosae e Thyrsigerae. Flora Ilustrada do Rio Grande do Sul, n.21. **Boletim do Instituto de Biociências**, Porto Alegre, n. 50, p. 1-90, 1992.

SAEBO, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy de birch plantlets in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 41, n. 2, p. 177-185, May 1995.

SCHLUTER, U.; MUSCHAK, M.; BERGER, D.; ALTMANN. Photosynthetic performance of an Arabidopsis mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 383, p. 867-874, Feb. 2003.

SCHMITT, J.; WULFF, R. D. Light spectral quality phytochrome and plant competition. **Trends in Ecology & Evolution**, Oxford, v. 8, n. 2, p. 47-51, Feb. 1993.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C. S.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, Mar. 1997.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E. E. ColorNets: Crop Protection and Light-Quality Manipulation in One Technology. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 659, 2004.

SIMÕES, S. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STELMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5. Ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 1998.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003. p. 467-495.

SIRIVASTAVA, A.; ZEIGER, E. Guard cell zeaxanthin traps photosynthetic active radiation and stomatal apertures in *Vicia faba* leaves. **Plant Cell Environmental**, Oxford, v. 18, n. 7, p. 813-17, July 1995.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TSUNOYAMA, Y.; MORIKAWA, K.; SHIINA, T.; TOYOSHIMA, Y. Blue light specific and differential expression of plastid sigma factor, Sig5 in *Arabidopsis thaliana*, **Febs Letters**, Amsterdam, v. 516, n. 1/3, p. 225-228, Apr. 2002.

VALIO, I. F. M. Effects of shading and removal of plant parts on growth of *Trema micrantha* seedlings. **Tree Physiology**, Victoria, v. 21, n. 1, p. 65-70, Jan. 2001.

VENTRELLA, M. C.; MING, L. C. Produção de matéria seca e óleo essencial em folhas de erva-cidreira sob diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 972-974, jul. 2000. Suplemento.

VILEGAS, J. H. Y.; DE MARCHI, E.; LANCAS, F. M. Extration of low-polarity compounds (with emphasis on coumarin and kaurenoic acid) from *Mikania glomerata* (Guaco) leaves. **Phytochemical Analysis**, Sussex, v. 8, n. 5, p. 266-270, Sept./Oct. 1997.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos florestais**, Piracicaba, n. 17, p. 1-26, 2003.

VLIENTINCK, A. J.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; PIETERS, L. A. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus infection (HIV). **Planta Médica**, Stuttgart, v. 64, n. 2, p. 97-109, Mar. 1998.

VOLTAN, R. B. Q.; FAHL, J. L.; CARELLI, M. L. C. Variações na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. **Revista Brasileira de Fisiologia**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 99-105, dez. 1992.

WHATLEY, F. H.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas**. São Paulo: EPU-EDUSP, 1982. 101 p. (Temas de Biologia, 30).

YAMAURA, T.; TANAKA, S.; TABATA, M. Light-dependent formation of glandular trichomes and monoterpenes in thyme seedlings. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 741-744, Mar. 1989.

ZOMLEFER, W. B. **Guide to flowering plant families.** Carolina, USA: Chapel Hill & London, 1994.

CAPÍTULO II

**EFEITO DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE TRANSMISSÃO DE LUZ,
COM USO DE MLHAS COLORIDAS NO CRESCIMENTO E
ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE PLANTAS JOVENS DE *Mikania*
glomerata Sprengel E *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker
(ASTERACEAE)**

1 RESUMO

SOUZA, Girlene Santos de. Efeito de diferentes condições de transmissão de luz, com uso de malhas coloridas no crescimento e aspectos fisiológicos de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz bip. ex Baker (Asteraceae). In: _____. **Desenvolvimento vegetativo, características anatômicas e fitoquímicas de plantas jovens de duas espécies de guaco, submetidas a diferentes condições de qualidade de radiação**. 2006. cap. 2, p. 38-71. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Alterações nos padrões de crescimento, expressas a partir de mudanças na produção de biomassa, área foliar e teor de pigmentos foliares, durante o desenvolvimento inicial de plantas de duas espécies de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip e *Mikania glomerata* Sprengel), importantes espécies medicinais utilizadas para o tratamento de doenças respiratórias, foram estudadas em três condições de transmissão de luz, utilizando malhas coloridas ChromatNet vermelha, azul e cinza, com 50% de sombreamento, em comparação à ausência de sombreamento (pleno sol). As plantas foram obtidas a partir de estacas e mantidas sob os tratamentos por 120 dias, determinando-se matéria seca total e particionada (entre folha, caule e raízes), área foliar, razão de área foliar, razão de peso foliar, área foliar específica, conteúdo de pigmentos foliares (clorofilas e carotenóides) e fotossíntese potencial. Os resultados revelaram que a malha azul proporcionou aumento no acúmulo de massa seca total e particionada da área foliar e, ainda, acréscimos nos teores de clorofilas a, b e total, para ambas as espécies em relação às outras malhas e ao tratamento a pleno sol. Não foram observadas, contudo, alterações na razão de peso foliar e relação clorofila a/b. Contudo, observou-se que o sombreamento alterou significativamente a distribuição de massa seca e que o uso de diferentes malhas modifica o conteúdo de pigmentos nas espécies de guaco em estudo.

* Comitê Orientador: Dr. Evaristo Mauro de Castro (Orientador), Dra. Ângela Maria Soares (Co-orientador).

2 ABSTRACT

SOUZA, Girlene Santos de. Effect of different conditions of light transmission, with use of colored net on the growth and physiologic aspect of young *Mikania glomerata* Sprengel and *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker (Asteraceae). In:_____. **Vegetative development, anatomic characteristics and phytochemistry of young plants of two species of gauco under different radiation quality conditions.** 2006. Chap. 2, p. 38-71. Thesis (Doctor degree in Agronomy/Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Change on the growth standard, as indicated by the variation on biomass production foliar area and foliar pigments concentration, during the initial development of *Mikania laevigata* Schultz Bip and *Mikania glomerata* Sprengel, important medicinal species used to the treatment of breathing diseases, were studied under three light conditions using 50% red, blue and gray ChromatNet shade plus an additional control treatment, plants fully exposed to the sun. The plants were obtained from ESTACAS and were kept under the respective shading treatment for 120 days. During that period it was measured total dry matter, partitioned dry weight (leaf, stem and root) leaf area, leaf area and foliar weight rate, specific leaf area, concentration of foliar pigment (chlorophyll and carotenoid) and photosynthesis potential. The two plant species under blue chromatnet shade had greater total and partitioned dry matter accumulation of the foliar area, chlorophyll a, b and total content as compared with the other nets and the plants fully exposed to the sun. The shading also altered the pigment content of the studied species. There was no difference on the foliar weight and chlorophyll a to b ratio.

* Commite Members: Dr. Evaristo Mauro de Castro (Adviser), Dra. Ângela Maria Soares (Co-adviser).

3 INTRODUÇÃO

Mikania laevigata Schultz Bip. Ex Baker e *Mikania glomerata* Sprengel, conhecidas vulgarmente como guaco, pertencentes à família Asteraceae, são espécies medicinais encontradas nas regiões subtropicais da América do Sul, da África e da Ásia (Lorenzi & Matos, 2003). O guaco é uma das plantas medicinais de maior consumo, utilizada principalmente no tratamento de afecções respiratórias, que age dilatando os brônquios, sendo a cumarina uma das substâncias associadas a esse efeito (Pereira et al., 2000). Destacam-se, ainda, estudos que estão sendo desenvolvidos, verificando outros efeitos farmacológicos desta planta, como, por exemplo, sua atividade analgésica, antibacteriana, antiinflamatória, fungicida e anticancerígena (Abifito, 2006). No entanto, há poucos relatos na literatura acerca de informações sobre a fisiologia do desenvolvimento e aspectos do crescimento vegetativo dessas espécies em relação às variações dos fatores ambientais. Tais conhecimentos constituem ferramenta indispensável para a determinação das condições ideais de cultivo, a fim de alcançar maiores índices de produção de matéria seca e princípios ativos de interesse farmacológico.

A luz corresponde a um dos principais aspectos da interação das plantas com o ambiente, que age no controle do desenvolvimento das plantas, interferindo no crescimento por meio do processo fotossintético, na diferenciação durante a morfogênese e na partição de assimilados (Machackova et al., 1998). Sua ação pode ser verificada em termos quantitativos (intensidade luminosa ou densidade de fluxo de fótons), qualitativos (espectro de radiação eletromagnética azul e vermelha) e quanto à duração (fotoperíodo).

A qualidade espectral pode influenciar muitos aspectos do desenvolvimento da planta, como crescimento, estruturas anatômicas das folhas,

exercendo efeitos durante a expansão foliar, fazendo com que as mesmas exibam alto grau de plasticidade fisiológica e anatômica em relação a mudanças na qualidade de luz (Lee et al., 2000; Pons & Van Berkel, 2004; Schuerger et al., 1997), além de afetar a biossíntese de compostos químicos.

Essas respostas morfofisiológicas das plantas não dependem apenas da presença, atenuação ou ausência da luz, mas também da variação em qualidade luminosa. Morini & Muleo (2003) afirmam que as plantas desenvolveram uma série de fotorreceptores que regulam seu crescimento e desenvolvimento em relação às variações da radiação luminosa incidente, com o objetivo de aperfeiçoar a captação da energia para a fotossíntese.

Técnicas de alteração espectral pelo uso de malhas coloridas são bastante promissoras no desenvolvimento das plantas (Grinberger et al., 2000), principalmente em relação aos efeitos morfoanatômicos e fisiológicos (Shahak et al., 2004), melhorando a penetração da luz no dossel. As respostas variam de acordo com a espécie estudada (Lee et al., 2000; Kim et al., 2004). As respostas observadas quanto à variação na disponibilidade de luz costumam envolver alterações nas características das folhas relacionadas à fotossíntese, como razão clorofila a/b, espessura foliar, teor de nitrogênio, densidade estomática e ou alterações na proporção de tecidos fotossintetizantes, levando à modificação na distribuição de biomassa (Osunkoya, 1994).

As malhas coloridas são usadas, geralmente, para proteger as culturas da radiação solar excessiva ou perigos ambientais, modificando a especificidade da luz solar, concomitantemente com a melhoria do microclima. Os benefícios dessas malhas visam melhorar o crescimento, o rendimento, a qualidade e o desempenho total das plantas.

Pesquisas sobre a manipulação da qualidade de luz foram realizadas na maior parte nas regiões espectrais do azul, vermelho e vermelho-distante (V/VD), visando à manipulação dos fotorreceptores das plantas (Batschauer,

1998). Tais manipulações têm sido utilizadas em casas de vegetação, por meio de filtros fotosseletivos líquidos, contendo sulfato de cobre (Rajapakse & Kelly, 1992) ou por meio de coberturas coloridas do solo, as quais modificam especificamente a luz nas regiões espectrais do ultravioleta, do visível ou do vermelho-distante, aumentando a quantidade de luz difusa em seu interior (Oren-Shamir et al., 2001; Rajapakse, 1999). Segundo os autores, a malha azul, ao contrário da malha vermelha, não reduz a razão V/VD do espectro da luz difusa.

Tsunoyama et al. (2002) relatam que a luz azul regula a expressão de certos genes envolvidos em vários processos morfogênicos importantes, como, por exemplo, em *Arabidopsis*, em que o gene psbD do cloroplasto, que codifica a subunidade D2 do centro de reação do fotossistema II (PSII), é especificamente ativado pela luz azul. Em trabalho com *Commelina communis*, Schwartz & Zeiger (1984) observaram que, na presença de luz azul, ocorria um aumento na abertura estomática acima do nível alcançado sob luz vermelha saturante, o que indica a existência de um sistema de fotorreceptor diferente, estimulado pela luz azul.

A resposta do crescimento de algumas plantas à qualidade de luz é variável. Em *Phalaenopsis* sp, uma espécie de orquídea epífita com potencial ornamental, verificou-se que o uso de malhas coloridas interferiu no crescimento e no comportamento fenológico da espécie. Houve mais massa seca e fresca nas folhas das plantas cultivadas sob malha azul (Leite, 2002).

Lee et al. (2000), estudando o efeito do ambiente luminoso em relação à densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (400-700nm) e à qualidade da luz sobre a estrutura e função de duas espécies de *Hopea*, espécies nativas do Sudoeste da Ásia, verificaram que os tratamentos afetaram a composição dos pigmentos e propriedades ópticas.

Whatley & Whatley (1982) afirmam que a luz é essencial à síntese de clorofilas e, por isso, diferenças nas condições de luminosidade podem acarretar variações em seus teores. Folhas de sombra, por exemplo, possuem concentração maior de clorofila (mg/g) do que as folhas de sol (Kramer & Kozlowski, 1979). Outros autores, como Ferraz & Silva (2001) e Fontes & Silva (2000), afirmam que, geralmente, não só a clorofila, mas também os carotenóides tendem a aumentar seus teores com a redução da intensidade luminosa. Entretanto, Engel & Poggiani (1991) encontraram resultados distintos para algumas espécies. Variações nas concentrações de clorofila e carotenóides nas plantas são indicativas, ainda, de estresse, devido à alta luminosidade, freqüente sob condições tropicais.

Neste contexto, tendo em vista a importância da radiação solar sob os diversos aspectos ecofisiológicos nas espécies vegetais, no presente trabalho o objetivo foi avaliar o efeito da intensidade e da qualidade espectral e suas variações em função da luz transmitida pelas malhas coloridas, no crescimento vegetativo, e aspectos fisiológicos de duas espécies de guaco.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, região Sul do estado de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW, no período de abril a outubro de 2006.

As mudas foram formadas a partir de estacas de 15 cm, retiradas do terço médio dos ramos, provenientes de plantas adultas localizadas no Horto de Plantas Medicinais/UFLA. As estacas com dois pares de folhas foram colocadas

em bandeja de isopor contendo o substrato comercial Plantmax. A propagação das mudas ocorreu em viveiros com 50% de sombreamento, durante 50 dias.

Após este período, as estacas foram transplantadas para tubos de PVC com capacidade de 3 L, contendo substrato constituído por uma mistura de vermiculita, esterco bovino decomposto e terra de subsolo, na proporção 2:3:5, previamente analisado no Laboratório de Solos da UFLA. As plantas foram transferidas para viveiro com nível de sombreamento 50% de transmitância na região fotossinteticamente ativa, com o uso de malhas coloridas ChromatiNET vermelhas, azul e cinza (Polysack Plastic Industries), conforme a especificação do fabricante e um tratamento a pleno sol (0% de sombreamento), como testemunha. As malhas, segundo o fabricante, alteram o espectro de luz solar por elas transmitidas; a malha vermelha reduz as ondas azuis, verdes e amarelas e acrescenta ondas na região do vermelho e vermelho-distante; a malha azul reduz ondas na faixa do vermelho e vermelho-distante, acrescentando ondas azuis, enquanto que, na malha cinza, a distribuição da luminosidade é causada pela refração da luz direta através de cristais presentes na própria malha. Vale salientar que todas essas malhas são produzidas com aditivos especiais que as convertem em singulares filtros de luz.

A intensidade da radiação foi mensurada por meio de um quantômetrofotômetro-radiômetro LI-COR, modelo LI-185, equipado com um sensor quântico, sendo a radiação solar expressa em $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. No tratamento a pleno sol, foi observada intensidade de $1.500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, correspondendo a 100% da radiação incidente, sob malha cinza $660 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (44%), sob malha vermelha $690 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (46%) e sob malha azul $650 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (43%). Essas medições foram feitas em 30/04/2006, às 12 horas, em dia claro, sem presença de nuvens.

Em razão do hábito trepador destas espécies, as plantas foram tutoradas com estacas de bambu, permanecendo em condições de viveiro por um período

de 120 dias. Durante esse período de condução, as mudas foram diariamente irrigadas.

Após 120 dias do início do experimento, foram analisadas as seguintes características relacionadas ao crescimento: comprimento do ramo principal, diâmetro do ramo principal, biomassa seca e particionada (folhas, caule e raízes). As medidas de comprimento foram realizadas com auxílio de régua e o diâmetro do ramo, utilizando paquímetro com precisão de 0,01mm.

As plantas foram separadas em folhas, caule e raízes. Todo o material foi acondicionado em sacos de papel devidamente identificados e colocados em estufa com circulação forçada de ar, a $70 \pm 2^\circ\text{C}$, até peso constante, o que ocorreu após, aproximadamente, 72 horas. Após a secagem, o material foi pesado em balança analítica com precisão de 10^{-4}g para quantificar a distribuição de biomassa nas partes da planta, em cinco plantas de cada tratamento.

A medição da área foliar foi avaliada, ao final do experimento, em cinco plantas de cada tratamento, em 100% das folhas completamente expandidas, utilizando-se um integrador de área foliar MODEL LI-3100, Area Meter marca LICOR.

A razão de área foliar específica (RAF), a razão de peso foliar (RPF) e a área foliar específica (AFE) foram determinadas a partir dos valores de área foliar (A), expressos em dm^2 , do peso da massa seca da planta (P) e do peso da massa seca das folhas (P_f), ambos expressos em g, de acordo com Benincasa (1998).

A determinação dos teores de clorofila foi realizada em cinco plantas por tratamento, a partir de três folhas completamente expandidas retiradas na região mediana das plantas. Essas folhas foram acondicionadas em papel alumínio e em caixa de isopor com gelo até serem transferidas para o laboratório. A quantificação das clorofilas a , b e total foi realizada segundo a metodologia de Arnon (1949).

A extração e a quantificação dos carotenóides foram realizadas ao final do experimento, segundo a metodologia descrita por Duke & Kenyon (1985), a partir de cinco folhas maduras e completamente expandidas do 4º nó abaixo do ápice das plantas, coletadas e imediatamente acondicionadas em papel alumínio, as quais foram mantidas sob refrigeração. Os teores de carotenóides foram quantificados utilizando-se os coeficientes de absorvidade molar de Sandmann & Berger (1983), realizando-se a leitura espectrofotométrica a 445 nm.

A medição da fotossíntese potencial (A_{max}) foi realizada com o auxílio de um monitor de oxigênio, com saturação lumínica em torno de $1.500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e temperatura de 30°C. Para esta avaliação, foram utilizados três discos foliares de folhas maduras e completamente expandidas de 5 plantas de guaco com 120 dias de idade.

Os ensaios foram conduzidos seguindo-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos de radiação representados pelas malhas coloridas (vermelha, preta e cinza) com 50% de sombreamento e um tratamento testemunha a pleno sol, sendo a unidade experimental constituída de uma planta.

Os dados foram submetidos à análise de variância (Teste F) utilizando-se o programa estatístico SAS Institute (1989). As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Massa seca total e particionada - as malhas empregadas influenciaram tanto o acúmulo de massa seca total quanto particionada, entre as folhas, caule e raízes. As plantas cultivadas sob malha azul acumularam maior quantidade de massa seca total, quando comparadas aos demais tratamentos, apesar de não ter

apresentado diferença significativa entre as malhas vermelha e cinza. Isso foi observado tanto para as plantas de *M. glomerata* quanto de *M. laevigata* (Tabelas 1 e 2, respectivamente), mostrando que a produção de biomassa total nos indivíduos dessa espécie foi influenciada tanto pela intensidade quanto pela qualidade espectral da luz solar.

TABELA 1. Massa seca total e particionada das folhas, do caule e das raízes e relação raiz/parte aérea de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel, em função dos diferentes ambientes analisados. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Malhas	Massa seca (g)					Relação raiz/parte aérea
	Folhas	Caules	Raízes	Total		
Vermelha	23,97 b	22,97 a	23,00 a	69,95 a	0,48 a	
Cinza	23,17 b	18,40 a	14,70 b	56,27 ^a	0,34 a	
Azul	29,55 a	23,02 a	19,42 a	72,00 a	0,37 a	
Pleno Sol	17,77 c	10,15 b	13,75 b	41,67 b	0,49 a	

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

TABELA 2. Massa seca total, das folhas, dos ramos e das raízes e relação raiz/parte aérea de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex. Baker, em função dos diferentes ambientes analisados. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Malhas	Massa seca (g)					Relação raiz/parte aérea
	Folhas	Caules	Raízes	Total		
Vermelha	18,15 a	12,40 a	13,75 a	44,30 a	0,34 a	
Cinza	11,60 b	7,82 b	5,30 b	24,72 b	0,28 a	
Azul	23,70 a	15,25 a	12,07 a	51,02 a	0,33 a	
Pleno Sol	11,55 b	6,62 b	5,37 b	23,55 b	0,39 a	

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A diferença na produção de biomassa pôde ser observada em todos os tratamentos estudados. Pelos dados da tabela 1 verifica-se que a massa seca da folha, caule e total de *M. glomerata* foi incrementada em plantas cultivadas sob malha azul, não diferindo das outras malhas, sendo menor no tratamento sem o uso de malha, ou seja, a pleno sol. Em relação à matéria seca das raízes, estas tiveram maiores resultados quando cultivadas sob a malha vermelha, não diferindo da malha azul. Resultados encontrados por Oren-Shamir et al. (2001), em plantas de *Pittosporum variegatum*, revelaram maior percentual de ramos de maior comprimento presentes nas plantas sob malha vermelha, em relação ao sombreamento com malha azul ou preta. Outros pesquisadores também observaram menor tamanho de parte aérea das plantas cultivadas em casa de vegetação coberta com filmes de polietileno pintado com tinta que reduz a sua transmissividade à luz vermelho-distante (Li et al., 2000). Entretanto, Leite (2002) verificou que o uso de malhas coloridas interferiu no crescimento e no comportamento fenológico da *Phalaenopsis* sp, tendo ocorrido maior produção de massa seca nas plantas cultivadas sob a malha azul, com sombreamento 50%. Entretanto, para a espécie *Ocimum selloi*, ao contrário dos resultados encontrados neste trabalho, a maior produção de massa seca foi obtida em plantas crescidas sob radiação solar plena (Gonçalves, 2001).

Comparando-se a variação de massa seca entre as malhas coloridas, para a espécie *M. laevigata*, verificou-se que os maiores acúmulos de biomassa em folhas, caules e raízes foram observados em plantas cultivadas sob malha azul e vermelha, que não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 2). Menores variações nos acúmulos de fitomassa ocorreram no tratamento a pleno sol em folhas, caules e raízes, que diferiram das malhas azul e vermelha.

A relação raiz/parte aérea foi expressiva em condições de pleno sol para ambas espécies, não diferindo dos tratamentos sombreados (Tabela 1 e 2), o que indica uma alocação preferencial de matéria seca para o sistema radicular.

Resultado similar foi encontrado por Rezende (2004), em plantas de *Campomanesia rufa* crescidas a pleno sol, as quais apresentaram maiores acúmulos de matéria seca nas raízes e, conseqüentemente, maior relação raiz/parte aérea, em comparação a indivíduos mantidos sob sombreamento.

Lima Júnior (2006), analisando o crescimento de *Cupania vernalis* Camb. sob diferentes níveis de sombreamento, relatou que o crescimento da parte aérea foi reduzido nas plantas cultivadas a pleno sol, em relação àquelas sob 30% e 50% de sombreamento. Este autor, porém, não observou diferença significativa na massa seca do sistema radicular das plantas entre os tratamentos testados.

Thompson et al. (1992) e Walters et al. (1993) sugerem que a menor distribuição de matéria seca para raízes, quando as plantas são submetidas a condições de menor luminosidade, provavelmente, revela uma resposta adaptativa que proporciona maiores ganhos de carbono, como um aumento na razão de área foliar, ou que reflita numa estratégia buscando luminosidade, como um aumento na altura.

Com esses resultados de biomassa seca para as duas espécies de guaco, fica evidenciado que a produção de matéria seca total é reduzida pela quantidade de radiação solar. Isto é, plantas cultivadas a pleno sol, apresentaram menor produção de biomassa seca, provavelmente, em conseqüência de uma redução no processo fotossintético e, provavelmente, pela qualidade de luz, visto que foi verificada diferença entre as plantas cultivadas em condições de pleno sol e as cultivadas sob as malhas vermelha e azul.

Comparando o acúmulo de massa seca entre os tratamentos sob malhas, apesar de não ser observada uma diferença significativa nas plantas sob malha azul, a intensificação de radiação azul causada por essa malha estimulou o maior acúmulo de biomassa em relação às malhas cinza e vermelha. De acordo com Taiz & Zeiger (2004), as plantas utilizam a luz azul como fonte de energia e um

sinal que fornece informações sobre o ambiente. Tais informações são traduzidas em processos metabólicos que permitem às plantas alterarem seu crescimento e desenvolvimento. As respostas à luz azul podem incluir biossíntese de pigmentos e regulação de genes envolvidos em vários processos morfogênicos importantes, como, por exemplo, os que codificam a enzima chalcona sintase, que catalisa a biossíntese da pequena subunidade da rubisco. Dessa forma, é possível inferir que tenha ocorrido maior eficiência do processo fotossintético nas plantas nesse ambiente.

A distribuição de massa seca entre os diferentes órgãos de uma planta constitui um comportamento essencial às espécies vegetais, e que reflete a sua adaptabilidade às diferentes condições do ambiente (Benincasa, 1988). Ainda não está bem esclarecida a razão das alterações que ocorrem na alocação de biomassa entre os órgãos da planta em resposta às alterações espectrais. Alguns estudos, no entanto, associam a percepção do sinal ambiental pelo fitocromo e receptores de luz azul (criptocromos e fototropinas) (Parks et al., 2001).

Muitos autores descrevem, em diferentes espécies, que plantas a pleno sol alocam maiores percentuais de biomassa para o sistema radicular. Uma redução na distribuição de biomassa para raízes sob baixas condições de radiação resulta em uma resposta a atributos que melhoram o ganho de carbono sobre irradiância, como um aumento na área foliar ou que reflita uma estratégia buscando luminosidade, como um aumento na altura (Almeida et al., 2004; Dias-Filho, 1997; Paez et al., 2000; Thompson et al., 1992; Walters et al., 1993).

Área foliar - nas tabelas 3 e 4 estão apresentados os resultados médios relativos à área foliar total (AFT), à área foliar específica (AFE), à razão de área foliar (RAF) e à razão de peso foliar (RPF), num período de 120 dias após o início da indução dos tratamentos, das plantas de *M. glomerata* e *M. laevigata*, respectivamente.

O emprego de malhas coloridas com 50% de sombreamento não proporcionou diferença significativa na área foliar das plantas de guaco, promovendo maiores respostas em favor das malhas cinza e azul, para *M. glomerata* (Tabela 3) e azul e vermelho para *M. laevigata* (Tabela 4), comparativamente com os demais tratamentos. O tratamento sem malha determinou menor área foliar, comparado às plantas cultivadas sob sombreamento, diferindo significativamente dos outros tratamentos, para ambas as espécies, as quais mostraram-se também com maior conteúdo de massa seca retida em folhas dentre todos os tratamentos (Tabelas 1 e 2).

TABELA 3. Efeito das malhas coloridas na distribuição da área foliar total (AFT), área foliar específica (AFE), razão de área foliar (RAF) e razão de peso foliar (RPF) de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel, UFLA, Lavras, MG, 2006.

Malhas	AFT (dm ²)	AFE (dm ² /g)	RAF (dm ² /g)	RPF (g/g)
Vermelha	35,18 b	1,46 a	0,50 b	0,34 a
Cinza	41,56 a	1,78 a	0,73 a	0,41 a
Azul	45,57 a	1,53 a	0,63 a	0,40 a
Pleno sol	13,50 c	0,82 b	0,32 c	0,42 a

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

TABELA 4. Efeito das malhas coloridas na distribuição da área foliar total (AFT), área foliar específica (AFE), razão de área foliar (RAF) e razão de peso foliar (RPF) de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex. Baker, UFLA, Lavras, MG, 2006.

Malhas	AFT (dm ²)	AFE (dm ² /g)	RAF (dm ² /g)	RPF (g/g)
Vermelha	30,32 b	1,71 a	0,65 b	0,40 a
Cinza	27,71 b	1,92 a	0,93 a	0,47 a
Azul	37,26 a	1,61 a	0,76 b	0,46 a
Pleno sol	15,13 c	1,28 b	0,62 b	0,49 a

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

O aumento na expansão das folhas cultivadas sob malha azul é claramente vantajoso ao crescimento das plantas, pois conduz a melhores intercepções de luz e, conseqüentemente, à maior taxa de crescimento. Desse modo, há favorecimento do potencial fotossintético total, com a produção de maior quantidade de fotoassimilados, facilitando o particionamento de massa seca para outros órgãos da planta (Globig et al., 1997). Segundo Benincasa (1988), a área foliar total de uma planta é resultante da ação mútua de dois componentes foliares, representados pela área das folhas e número de folhas, os quais encontram-se intimamente interligados.

As plantas cultivadas a pleno sol tiveram a área foliar significativamente reduzida e menor AFE e RAF, em relação aos tratamentos de sombreamento com uso de malhas coloridas (Tabela 3 e 4). Este fato pode ser relacionado a uma menor matéria seca total dessas plantas nestas condições.

Segundo Jones & Mcleod (1990), a área foliar é uma característica muito utilizada na avaliação dos efeitos do sombreamento sob a planta. Em geral, o aumento da área foliar com o sombreamento é uma das maneiras da planta incrementar a superfície fotossintética, assegurando um melhor aproveitamento das baixas intensidades luminosas e, conseqüentemente, compensando as baixas taxas fotossintéticas por unidade de área foliar, que é uma característica das folhas de sombra.

Ainda nas tabelas 3 e 4, verifica-se que, sob sombreamento, a AFE foi maior em relação às plantas cultivadas a pleno sol, as quais diferiram dos demais tratamentos. A AFE, que é um indicativo da espessura da folha e estima a proporção relativa da superfície assimilatória e os tecidos de sustentação e condutores da folha, foi mais reduzida na condição de pleno sol, indicando que as folhas de *M. glomerata* e *M. laevigata* tornam-se mais espessas quando as plantas são mantidas em local sem nenhum tipo de sombreamento. De acordo com Larcher (2004), as plantas que crescem sob forte radiação desenvolvem

folhas espessas e apresentam um metabolismo mais ativo; como consequência, essas plantas apresentam maior produção de matéria seca, com maior conteúdo energético.

Para Brighenti et al. (1993), normalmente, há um decréscimo na AFE durante a fase de crescimento vegetativo, pois as folhas não se expandem às mesmas taxas, enquanto o crescimento progride. Apesar de não ser verificada diferença significativa entre as diferentes malhas coloridas, observou-se que os melhores resultados de AFE de plantas de guaco encontradas em malha azul estão associadas, possivelmente, a modificações no componente anatômico da AFE, representado pela matéria seca da folha, o que se traduz em alterações no número ou no tamanho das células do mesófilo foliar.

Sob condições de sombreamento de 50%, sob malhas cinza e azul, não houve diferença significativa de RAF para a espécie *M. glomerata*, enquanto, para *M. laevigata*, somente a malha cinza diferiu significativamente dos demais tratamentos. No entanto, os valores de RAF das plantas sombreadas foram superiores aos das plantas crescidas a pleno sol, fato que pode ser relacionado com dados da literatura, em que a RAF tende a aumentar sob condições de baixa luminosidade, em decorrência do incremento da área foliar e da consequente redução de biomassa seca total acumulada por estas plantas nestas condições. Entretanto, uma baixa RAF, verificada no tratamento a pleno sol, seria favorável, uma vez que menos material vegetal é exposto a eventuais danos por excesso de luz.

De acordo com Patterson (1980), aumentos na RAF constituem uma adaptação da planta à baixa luminosidade, representando maior proporção de tecido fotossinteticamente ativo na forma de área foliar, estrutura interceptadora de luz por excelência.

O decréscimo na RAF pode ser observado devido ao auto-sombreamento e sombreamento entre plantas, levando à diminuição na área

foliar fotossinteticamente útil (Benicasa, 1988). A determinação da RAF permite detectar também a translocação e a partição de assimilados para as folhas, em relação à matéria seca total da planta. Assim, a queda na RAF em plantas de guaco cultivadas a pleno sol demonstra a redução no direcionamento progressivo de matéria seca da planta para a formação de folhas, enfatizando que os efeitos são mais relacionados ao sombreamento do que à qualidade de luz.

Para RPF, observou-se que tanto para *M. glomerata* quanto para *M. laevigata*, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Sabe-se que a RPF representa a razão entre a matéria seca retida nas folhas e aquela exportada para as demais partes da planta. Por isso, fica evidenciado que as espécies de guaco em estudo retêm maior quantidade de matéria seca nas folhas, informação esta consistente em relação às maiores AFT ao peso seco encontrado nas espécies. Esses índices fisiológicos de crescimento são marcadamente influenciados por fatores do ambiente, em especial, a intensidade, a qualidade e a duração da radiação, o que reflete em alterações anatômicas e morfológicas de folhas (Benicasa, 1988).

Considerando-se que as folhas são os centros de produção de matéria seca (fotossíntese) e que os demais órgãos dependem da exportação da folha, a maior ou a menor exportação de matéria seca da folha podem ser características genéticas, a qual está sob a influência de variáveis ambientais. Dessa forma, por meio dos resultados obtidos, verifica-se que a malha não interferiu na eficiência de exportação de matéria seca das folhas para a planta como um todo. Além disso, o grande incremento no peso de matéria seca de caules e raízes (Tabelas 1 e 2), que são drenos muito fortes, não afetou a matéria seca das folhas, o que também contribuiu com a estabilidade da RPF em todas as malhas testadas. Dessa forma, pode-se observar que a variação na RAF de plantas pode ser totalmente atribuída a variações na AFE, uma vez que a RPF não foi afetada pelos tratamentos.

As plantas crescidas sob malhas vermelha e azul apresentaram valores inferiores de RPF que as plantas crescidas em ambiente de pleno sol e sob malha cinza, apesar de não ter sido observado diferença significativa entre os tratamentos. Isso informa que *M.glomerata* e *M. laevigata* sob malhas azul e vermelha, alocam menos fotoassimilados para as folhas em relação aos demais tratamentos.

Comprimento do ramo principal e diâmetro do ramo – o comprimento do ramo principal das plantas de *M. laevigata* e *M. glomerata* foi afetado pelo uso de malhas coloridas. Observou-se que as plantas de guaco tiveram menor porte quando cultivadas a pleno sol em relação aos demais tratamentos. O maior crescimento foi observado nas plantas cultivadas sob malha azul para *M. glomerata* e malha cinza para *M. laevigata*, que diferiu estatisticamente dos demais tratamentos sombreados (Figura 3).

Com esses resultados, verifica-se uma relação entre o crescimento em altura e o acúmulo de matéria seca. Tanto as plantas de *Mikania glomerata* como de *Mikania laevigata* cultivadas sob sombreamento com malhas coloridas investiram maior quantidade de fotoassimilados na parte aérea do que aquelas cultivadas em pleno sol, provavelmente associada a um maior alongamento celular das plantas crescendo sob sombreamento.

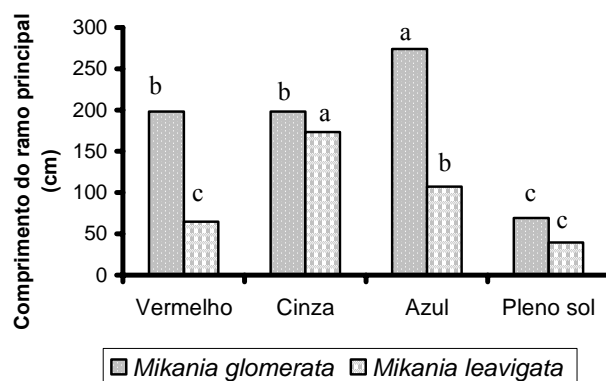


FIGURA 3. Comprimento do ramo principal (cm) das plantas de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* schultz Bip. Ex Baker submetidas ao sombreamento com malha colorida, durante 120 dias. Barras seguidas da mesma letra, dentro de cada espécie, não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

O crescimento da planta pode ser relacionada à sua habilidade de adaptação às condições luminosas disponíveis. O crescimento satisfatório de algumas espécies em ambientes com diferentes disponibilidades de luz pode ser atribuído à capacidade de ajustar, eficaz e rapidamente, seu comportamento fisiológico para maximizar a aquisição de recursos nesse ambiente (Dias-Filho, 1997).

Oren-Shamir et al. (2001) informaram, em seu trabalho, no qual foi utilizado o mesmo tipo de malha azul, que a mesma possibilita maior transmissão para os comprimentos de onda na faixa do azul e vermelho-distante. Portanto, este aumento em altura nas plantas sob esta condição pode ser explicado como uma resposta de evitação à sombra, uma vez que, provavelmente, o ambiente de cultivo encontrava-se enriquecido com radiação vermelho-distante.

Em relação ao diâmetro do colo não houve diferença significativa tanto para *M. glomerata* quanto *M. laevigata*, conforme mostrado na figura 4.

Respostas semelhantes foram observadas em várias espécies cuja característica de crescimento foi promovida pela condição de sombreamento (Alvarenga et al., 2003; Atroch et al., 2001; Campos & Uchida, 2002). Entretanto, em *Cabrlea canjerana*, por exemplo, os maiores valores em altura foram encontrados em condições extremas de luz, ou seja, a pleno sol. Enquanto Felfili et al. (1999), trabalhando com velame (*Sclerolobium paniculatum*), observaram que as maiores médias de diâmetro do ramo ocorreram também nos tratamentos a pleno sol.

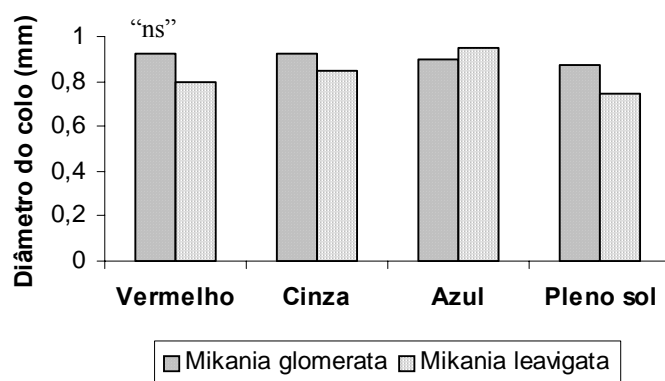


FIGURA 4. Diâmetro do caule principal (mm) das plantas de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* schultz Bip. Ex Baker submetidas ao sombreamento com malha colorida, durante 120 dias. Barras seguidas da mesma letra, dentro de cada espécie, não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Teores de clorofila e carotenóides - em relação à análise do conteúdo de clorofila, foram observados maiores valores de clorofila *a* em folhas

submetidas à malha azul; nas malhas vermelha e cinza foram observados valores intermediários e, a pleno sol, ocorreu o menor valor, revelando significativa viabilidade nos tratamentos submetidos a diferentes condições luminosas. A concentração de clorofila *b* foi maior em plantas cultivadas sob sombreamento azul e menor em plantas cultivadas a pleno sol. O teor de clorofila total foi maior também no azul, mostrando, porém, diferenças significativas entre os tratamentos vermelha, cinza e pleno sol (Tabelas 5 e 6). Resultados estes que podem estar relacionados a uma menor relação V/VD existente no ambiente proporcionado pela malha vermelha, o que está de acordo com os resultados encontrados por Kasperbauer & Peaslee (1973), que observaram menor conteúdo de clorofila por unidade de área em tabaco, por apresentarem uma baixa relação V/VD.

Em plantas a pleno sol, o teor de clorofilas *a*, *b* e total foi reduzido em relação às plantas dispostas sob sombreamentos. Diversos trabalhos, como os de Atroch (1999), Castro (2002), Engel & Poggiani (1991), Ferraz & Silva (2001), Fontes & Silva (2001), Gomes (2004), Lee et al. (2000) e Lima Júnior (2006), também relatam maiores teores de clorofilas em plantas sombreadas em relação às de pleno sol, evidenciando que a quantidade de radiação influencia fortemente os teores de pigmentos cloroplastídicos.

Apesar de um menor teor de clorofila total encontrado nas plantas de *M. glomerata* cultivadas a pleno sol, estas tiveram, numericamente, maior relação clorofila *a/b* quando comparadas aos demais tratamentos, porém, não diferiram entre si (Tabela 5). Esta redução se deve ao fato da menor irradiância experimentada pelos tratamentos sob as malhas coloridas. Para as plantas de *M. laevigata*, esta relação foi maior em plantas submetidas à malha vermelha, que diferiu das malhas cinza e azul (Tabela 6). Estes resultados revelam que *M. laevigata* dispõe de diferentes estratégias no acúmulo e uso de pigmentos fotossintéticos em ambientes com variações na disponibilidade e na composição

espectral da luz.

TABELA 5. Teores de clorofila a, b e total (mg/g de matéria fresca) e relação clorofila a/b, em mudas de *Mikania glomerata* Sprengel, submetidas a diferentes condições de qualidade de luz. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Malhas	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	Relação clorofila a/b
Vermelha	1,68 b	0,90 b	2,58 b	1,90 a
Cinza	1,98 b	1,00 b	2,99 b	1,96 a
Azul	2,69 a	1,51 a	4,21a	1,82 a
Pleno Sol	1,33c	0,76 b	2,10 c	2,07 a

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

TABELA 6. Teores de clorofila a, b e total (mg/g de matéria fresca) e relação clorofila a/b, em mudas de *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex. Baker, submetidas a diferentes condições de qualidade de luz. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Malhas	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	Relação clorofila a/b
Vermelha	2,42 c	0,90 c	3,32 c	2,34 a
Cinza	2,56 b	1,27 b	3,84 b	2,01 a
Azul	2,76 a	2,24 a	5,02 a	1,25 b
Pleno Sol	1,53 c	0,75 c	2,29 d	2,10 a

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A razão entre a clorofila *a* e *b*, de maneira geral, diminui com a redução da intensidade luminosa (Boardman, 1977; Kozlwshi, 1991), devido a uma maior proporção relativa de clorofila *b* em ambientes sombreados, que pode estar associada à sua degradação mais lenta em relação à clorofila *a* (Engel & Poggiani, 1991). Este aumento da clorofila *b* em diferentes ambientes está associado à sua degradação, que é mais lenta em relação à clorofila *a* (Engel &

Poggiani, 1991).

Entretanto, para algumas espécies como *Myrtus communis* L., não foi encontrada diferença significativa na relação clorofila *a/b* em plantas cultivadas a pleno sol ou 30% de irradiância (Mendes et al., 2001).

A luz azul influencia a biossíntese de clorofila e outros pigmentos por meio da regulação da expressão de determinados genes (Tsunoyama et al., 2001). Isso pode explicar o maior vigor foliar encontrado para todas as variedades tratadas com malha azul.

Quanto aos teores de carotenóides, pode-se verificar, pelo gráfico da Figura 5, que, para *M. glomerata*, não houve diferença no teor de carotenóides entre as malhas cinza e azul, enquanto que, para *M. laevigata*, a cinza diferiu das malhas vermelha e azul não diferindo das plantas cultivadas em condições de pleno sol. Observa-se que o maior valor foi obtido pelas mudas mantidas em sombreamento com malhas azul e cinza e o menor valor pelas mudas sob pleno sol, tanto para as plantas de *Mikania glomerata* quanto de *Mikania laevigata*.

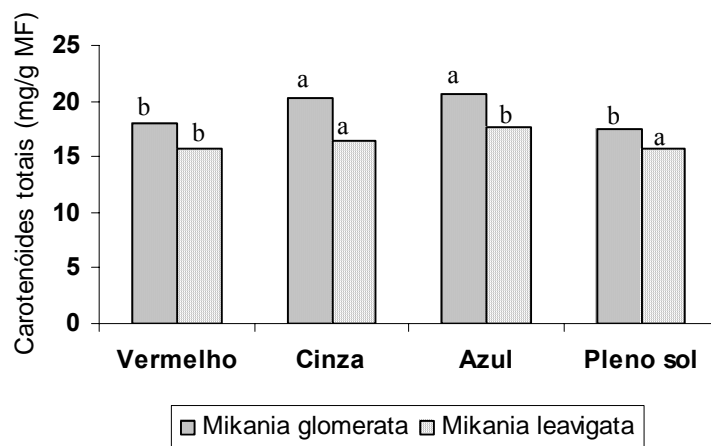


FIGURA 5. Conteúdo de carotenóides de plantas de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* submetidas ao sombreamento com malha colorida, durante 120 dias. Barras seguidas da mesma letra para cada espécie, não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Diferentemente dos resultados encontrados neste trabalho, Gonçalves et al. (2001), que avaliaram a concentração de pigmentos fotossintéticos em mogno e cumaru, sob dois ambientes de luz, verificaram que os teores de carotenóides ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MF) foram sempre maiores no ambiente de sol. Resultados encontrados por McMahon & Kelly (1995) mostraram que plantas de crisântemo cultivadas sob filtro de sulfato de cobre, que reduz a transmissão da luz VD, apresentaram maiores conteúdos de carotenóides, como também de clorofila a e b, quando comparadas às plantas cultivadas sob filtro de tinta azul, que receberam uma menor relação V/VD.

García-Plazaola et al. (1999), em trabalhos com *Quercus ilex*, observaram aumentos consideráveis nos teores de carotenóides e antioxidantes (ascorbato, glutatona e α -tocoferol) em folhas a pleno sol em relação às folhas

de sombra, e atribuíram esse fenômeno à capacidade de resistência à fotoxidação por excesso de luz.

Os baixos teores de pigmentos fotossintéticos (carotenóides e clorofila total), observados nas plantas cultivadas a pleno sol, podem indicar a ocorrência da fotoinibição nestas plantas, devido à radiação, no que se refere à captação de luz em ambientes de menor luminosidade e à proteção contra a fotodestruição em ambiente de maior luminosidade (Gomes, 2004). A luz absorvida pelos carotenóides é transferida à clorofila pelo processo de fotossíntese. Logo, as plantas sob malha azul foram, provavelmente, beneficiadas na captação de radiação em relação às demais sombreadas, uma vez que os carotenóides absorvem a luz na região dos 400-500 nm, faixa da luz azul do espectro.

Fotossíntese – a taxa de fotossíntese potencial não mostrou nenhuma diferença significativa entre as plantas de *M. glomerata* e *M. laevigata* crescidas sob as malhas vermelha, cinza e azul (Figura 6). Este fato leva a acreditar que o espectro diferenciado transmitido pelas malhas coloridas não interferiu no aparelho fotossintético das espécies de guaco em estudo.

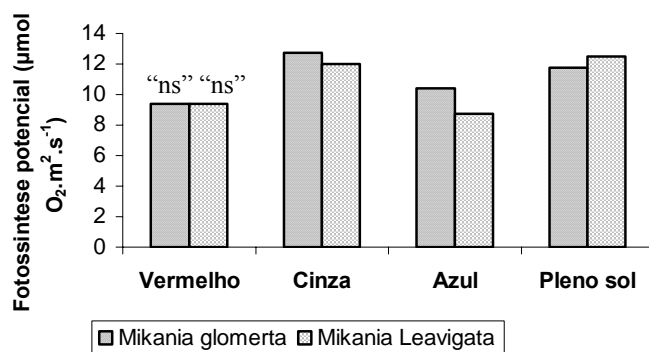


FIGURA 6. Fotossíntese total de plantas de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* submetidas ao sombreamento com malha colorida durante 120 dias. Barras seguidas da mesma letra para cada espécie não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

As folhas da malha cinza, aparentemente, apresentaram altas taxas, em torno de $12,01 \mu\text{molO}_2.\text{m}^2\text{s}^{-1}$ e $12,74 \mu\text{molO}_2.\text{m}^2\text{s}^{-1}$, para *Mikania laevigata* e *Mikania glomerata*, respectivamente, enquanto que essas medidas foram mais baixas sob a malha azul (Figura 6), quando comparada com as outras malhas, apesar de não ter diferença significativa entre elas. As folhas crescidas em condições de pleno sol também apresentaram uma taxa fotossintética mais alta que as folhas crescidas em condições de sombreamento sob a malha vermelha e azul. Esses resultados estão de acordo com Oren-Shamir et al. (2001) que, trabalhando com *Pittosporum*, encontraram maiores taxas fotossintéticas nas plantas crescidas sob a malha cinza. Segundo estes autores, estas taxas fotossintéticas poderiam depender em parte do nível da variação foliar, ou seja, com mais variação significa menos área verde.

Entretanto, nas folhas de *Convallaria majalis*, uma espécie C₃ do tipo sombra, a luz azul aumentou atividade fotossintética nestas plantas quando comparada com a luz vermelha (Bukhov et al., 1995). Segundo estes autores, a

qualidade de luz afeta a curva de fotossíntese de maneira complexa e depende, em parte, da origem ecológica da planta.

A intensidade e a qualidade de luz são de significância considerável para a conversão da energia química no processo fotossintético, como também para alguns efeitos morfogênicos, os quais podem ser observados pelas variações no tamanho das folhas. Além disso, a plasticidade adaptativa das espécies, associada ao acúmulo de biomassa, depende do ajuste de seu aparelho fotossintético e esta sujeita às diferentes condições de radiação solar (Attridge, 1990; Whatley, 1984).

Nas condições em que o trabalho foi conduzido, pôde-se concluir que plantas de *M. laevigata* e *M. glomerta* (Guaco) se adaptaram melhor ao ambiente sombreado, o qual influenciou, positivamente, as características associadas ao crescimento e à fotossíntese, como altura e diâmetro do ramo, produção de biomassa total, área foliar e conteúdos foliares, independente da radiação transmitida pelas malhas coloridas, enquanto que as plantas cultivadas a pleno sol apresentaram menor matéria seca total e baixos teores de pigmentos foliares.

O fato de transmitir menos radiação fotossinteticamente ativa não impediu as plantas cultivadas sob a malha azul de acumularem maior massa seca total que as outras malhas. Portanto, tal resultado torna necessários estudos futuros sobre os aspectos do desenvolvimento vegetativo de plantas cultivadas nessas condições.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIFITO. **O guaco, planta nativa da Mata Atlântica, tem mais propriedades terapêuticas do que se supunha.** Disponível em: <<http://www.abifito.com.br>>. Acesso em: 05 jul. 2006.

ALMEIDA, L. P.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; ZANELA, S. M. VIEIRA, C. V. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 83-88, jan./fev. 2004.

ALVARENGA, A. A. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. In southeastern Brazil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 53-57, jan./mar. 2003.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949

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

ATROCH, E. M. A. C.; SOARES, A. M.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M. Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. Submetidas a diferentes condições de sombreamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 853-862, out./dez. 2001.

ATTRIDGE, T. H. **Light and plant responses.** London: E. Arnold, 1990. 147 p.

BALLARÉ, C. L.; SCOPEL, A. L.; SÁNCHEZ, R. A.; RADOSEVICH, S. R. Photomorphogenic processes in the agricultural environment. **Photochemistry and Photobiology**, Oxford, v. 56, n. 5, p. 777-788, Nov. 1992.

BATSCHAUER, A. Photoreceptors of higher plants. **Planta**, Berlin, v. 206, n. 4, p. 479-492, Nov. 1998.

BENICASA, M. M. **Análise de crescimento de plantas.** Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1998. 41 p.

BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 28, p. 355-377, 1977.

BRIGHENTI, A. M. et al. Crescimento e partição de assimilados em losna. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 41-45, jun./nov. 1993.

BUKHOV, N. G.; DROZDOVA, I.S.; BONDAR, V.V. Light response curves of photosynthesis in leaves of sun-type and shade-type plants grown in blue or red light. **Journal of photochemistry and photobiology B; biology**, Lausanne, v. 30, n. 1, p. 39-41, Sept. 1995.

CAMPOS, M. A. A.; UCHIDA, T. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 281-288, mar. 2002.

CASTRO, E. M. **Alterações anatômicas, fisiológicas e fitoquímicas em plantas de *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento.** 2002. 221 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DIAS-FILHO, M. B. Physiological response of *Solanum crinitum* Lam. To contrasting light environment. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 8, p. 789-796, ago. 1997.

DUKE, S. O.; KENYON, W. H.; PAUL, R. N. FMC 57020 effects on chloroplast development in pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*) cotyledons, **Weed Science**, Champaign, v. 33, n. 6, p. 786-794, Nov./Dec. 1985.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofilas 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**, Londrina, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

FELFILI, J. M. Comportamento de plântulas de *Sclerolobium paniculatum* Vog. Var. *rubiginosum* (Tul.) Benth. Sob diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 297-301, out. 1999.

FERRAZ, K. K. F.; SILVA, D. M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de espécies florestais usadas na recuperação de áreas degradadas - II. *Calliandra calothyrsus* Meisn. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus-BA. **Anais...** Ilhéus-BA, 2001. 1CD-ROM.

FONTES, R. V.; SILVA, D. M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de *Piptadenia adiantoides* (Spreng.) Macbr., espécie florestal usada na recuperação de áreas degradadas. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus-BA. **Anais...** Ilhéus, 2001. 1CD-ROM.

GARCÍA-PLAZAOLA, J. I.; ARTETXE, U.; BECERRIL, J. M. Diurnal

changes in antioxidant and carotenoid composition in the Mediterranean sclerophyll tree *Quercus ilex* (L.) during winter. **Plant Science**, Clare, v. 143, n. 2, p. 125-133, May 1999.

GLOBIG, S. et al. Continuous light effects on photosynthesis and carbon metabolism in tomato. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 418, p. 141-151, 1997.

GOMES, I. A. C. **Alterações morfofisiológicas em folhas de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) 'Oeiras' sob influência do sombreamento por leguminosas**. 2004. 63 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GONÇALVES, J. F. de; MARENCO, R. A.; VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka Bean under two light environments. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 149-157, ago. 2001.

GRINBERGER, A.; SHOMRON, M.; GANELEVIN, R. **Shading nets testing**. 2000. Disponível em: <<http://www.polysack.com/index.php>>. Acesso em: 2006.

JONES, R. H.; MACLEOD, K. W. Growth and photosynthetic responses to a range of light environments in chinese tallow tree and carolina ash seedlings. **Forest science**, Washington, v. 36, n. 4, p. 851-862, Dec. 1990.

KASPERBAUER, M. J.; PEASLEE, D. E. Morphology and photosynthetic efficiency of tobacco leaves that receive end-of day red or far red light. **Plant Physiology**, Rockville, v. 52, n. 5, p. 440-442, 1973.

KIM, S-J.; HAHN, E-J.; HEO, J.; PAEK, K-Y. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 101, n. 1/2, p. 143-151, May. 2004.

KOZLOWSKI, T. et al. **The physiological ecology of woody plants**. London: Academic, 1991. 657 p.

KRAMER, T.; KOSLOWSKI, T. T. **Physiology of woody plants**. New York: Academic Press, 1979. 811 p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004.

531 p.

LEE, D.W.; OBERBAUER, S. F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMED, H.; YAP, S. K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian Hopea (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 4, p. 447-455, Apr. 2000.

LEITE, C. A.; ITO, R. M.; GERALD, L. T. C.; FAGNANI, M. A. **Manejo do espectro de luz através de malhas coloridas visando o controle do crescimento e florescimento de *Phalaenopsis* sp.** 2002. Disponível em: <<http://www.polysack.com/index.php>>. Acesso em: 2006.

LI, S. M.; RAJAPAKSE, N. C.; YOUNG, R. E.; OI, R. Growth responses of chrysanthemum and bell pepper transplants to photoselective plastic films. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 84, n. 3/4, p. 215-225, June 2000.

LIMA JR., E. C.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M. Physioanatomy traits of leaves in young plants of *Cupania vernalis* camb. subjected to different shading levels. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 33-41, jan./fev. 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 254 p.

MACHÁCKOVÁ, I. et al. Photoperiodic control of growth, development and phytohormone balance in *Solanum tuberosum*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 102, n. 2, p. 272-278, Feb. 1998.

McMAHON, M. J.; KELLY, J. W. Anatomy and pigments of chrysanthemum leaves developed under spectrally selective filters. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 64, n. 3, p. 203-209, Nov. 1995.

MENDES, M. M.; GAZARINI, L. C.; RODRIGUES M. L. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting mediterranean light environment - effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. **Environment and Experimental Botany**, Elmsford, v. 45, n. 2, p. 165-178, Apr. 2001.

MORINI, S.; MULEO, R. Effects of light quality on micropropagation of woody species. In: JAIN, S. M.; ISHII, K. **Micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 3-35.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E. E.; SHPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; OVADIA, R.; GILLER, Y. E.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum* **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May. 2001.

OSUNKOYA, O. O.; ASH, J. E.; HOPKINS, M. S.; GRAHAN, A. Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance of rain-forest tree species in northern Queensland. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 82, n. 1, p. 149-163, Mar. 1994

PAEZ, A.; GEBRE, G. M.; GONZALEZ, M. E.; TSCHAPLINSKI, T. J. Growth, soluble carbohydrates, and aloin concentration of *Aloe vera* plants exposed to three irradiance levels. **Environmental and experimental Botany**, Elmsford, v. 44, n.2, p. 133-139, Oct. 2000.

PARKS, B. M.; FOLTA, K. M.; SPALDING, E. P. Photocontrol of stem growth. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 4, n. 5, p. 436-440, Oct. 2001.

PATTERSON, D. T. Light and temperature adaptation. In: HESKETH, J. D., JONES, J. W. (Ed.). **Predicting photosynthesis for ecosystems models**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1980. p. 205-235.

PEREIRA, A. M. S.; CÂMARA, F. L. A.; CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M.; FRANÇA, S. C. Seasonal variation in coumarin content of *Mikania glomerata*. **Journal of Herbs Spices e Medicinal Plants**, Binghamton, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2000.

PONS, T. L.; VAN BERKEL, Y. E. M. de J. Species-specific variation in the importance of the spectral quality gradient in canopies as a signal for photosynthetic resource partitioning. **Annals of Botany**, London, v. 94, n. 5, p. 725-732, Nov. 2004.

RAJAPAKSE, N. C.; KELLY, J. C. Regulation of chrysanthemum growth by spectral filters. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, n. 3, p. 481-485, May 1992.

RAJAPAKSE, N. C.; YOUNG, R. E.; McMAHON, M. J.; OI, R. Plant height control by photoselective filters: current status and future prospects. **Horttechnology**, Alexandria, v. 9, n. 4, p. 618-624, Oct./Dec. 1999.

REZENDE, M. R. R. **Germinação, armazenamento de sementes e crescimento inicial de *Campomanesia rufa* (Berg.) Nied.** 2004. 84 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANDMANN, G.; BÖGER, P. Comparison of the Bleaching Activity of Norflurazon and Oxyfluorfen. **Weed Science**, Champaign, v. 31, n. 3, p. 338-341, May 1983.

SAS INSTITUTE CORPORATION. Propriety software release 6.08. Cary, 1989.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E. E.; COHEN, Y.; LAURIE, S.; STERN, R. KFIR, S.; NAOR, A.; ATZMON, I.; DORON, I.; GREENBLAT-AVRON, Y. ColorNets: A new approach for light manipulation in fruit trees. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 636, p. 609-616, 2004.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C. S.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, 1997.

SCHWARTZ, A.; ZEIGER, E. Metabolic energy for stomatal opening roles of photophosphorylation and oxidative phosphorylation. **Planta**, Berlin, v. 161, n. 2, p. 129-136, 1984.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

THOMPSON, W. A.; HUANG, L. K.; KRIEDEMANN, P. E. Photosynthetic response to light and nutrients in sun-tolerant and shade-tolerant rainforest trees. II. Leaf gas exchange and component processes of photosynthesis. **Australian Journal of Plant Physiology**, East Melbourne, v. 19, n. 1, p. 19-42, 1992.

TSUNOYAMA, Y.; MORIKAWA, K.; SHIINA, T.; TOYOSHIMA, Y. Blue light specific and differential expression of plastid sigma factor, Sig5 in *Arabidopsis thaliana*. **Febs Letters**, Amsterdam, v. 516, n. 1/3, p. 225-228, Apr. 2001.

WHATLEY, F. H.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas**. São Paulo: EPU-EDUSP, 1982. 101 p. (Temas de Biologia, 30).

WALTERS, M. B.; KRUGER, E. L.; REICH, P. B. Growth, biomass distribution and CO₂ exchange of northern hardwood seedlings in high and low

light: relationships with successional status and shade tolerance. **Ecologia**, Berlin, v. 94, n. 1, p.7-16. May 1993.

CAPÍTULO III

**ASPECTOS DA ANATOMIA FOLIAR E ULTRA-ESTRUTURA DE
CLOROPLASTÍDEOS DE PLANTAS JOVENS DE *Mikania laevigata*
Schultz Bip. Ex Baker (ASTERACEAE) CULTIVADAS SOB
DIFERENTES MALHAS COLORIDAS**

1 RESUMO

SOUZA, Girlene Santos de. Aspectos da anatomia foliar e ultra-estrutura de cloroplastídeos de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz bip. ex baker (Asteraceae) cultivadas sob diferentes malhas colorida. In:_____. **Desenvolvimento vegetativo, características anatômicas e fitoquímicas de plantas jovens de duas espécies de guaco submetidas a diferentes condições de qualidade de radiação.** 2006. cap. 3, p. 72-94. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O estudo da anatomia foliar é de grande importância para a compreensão do processo da plasticidade adaptativa de uma espécie sob diferentes condições ambientais. As malhas coloridas têm sido utilizadas para manipular a natureza do desenvolvimento da planta, principalmente em relação aos efeitos morfoanatômicos e fisiológicos. As respostas variam de acordo com a espécie estudada. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi examinar as alterações anatômicas foliares e da ultra-estrutura de cloroplastídeos de *Mikania laevigata* desenvolvidas sob diferentes malhas coloridas com nível de radiação de 50% de sombreamento e em condições de pleno sol. Os resultados demonstraram um aumento da espessura foliar nas plantas submetidas ao cultivo sob malha azul. Plantas cultivadas sob sombreamento com malha azul apresentaram também maior densidade e maiores índices estomáticos, não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Em relação ao número de cloroplastos por célula, não houve diferenças significativas entre os tratamentos, porém, uma maior quantidade pode ser observada nas folhas das plantas cultivadas sob a malha azul.

* Comitê Orientador: Dr. Evaristo Mauro de Castro (Orientador), Dra. Ângela Maria Soares (Co-orientador).

2 ABSTRACT

SOUZA, Girlene Santos de. Anatomy and ultra-structure foliar aspects of young *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker (Asteraceae) chloroplastides cropped under different colored nets. In:_____. **Vegetative development, anatomic characteristics and phytochemistry of young plants of guaco under different radiation quality conditions.** 2006. Chap. 3, p. 72-94. Thesis (Doctor degree in Agronomy/Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

The study of foliar anatomy is of great importance for the understanding of the adaptative plasticity of plant species under different environmental conditions. Colored nets have been used to manipulate the nature of the plant, mainly morpho-anatomic and physiologic process, although the plant response varies with the studied specie. This study examined changes in the *Mikania laevigata* foliar anatomy and the chloroplastides ultrastructure developed under 50% red, blue and gray ChromatNet shade plus an additional control treatment, plants fully exposed to the sun. The plants growing under blue net shade had a greater foliar thickness, stomata density and index as compared to the other treatments. The number of chloroplast per cell was similar among the treatments, however, plants under blue net conditions tended to present a greater quantity.

* Commite Members: Dr. Evaristo Mauro de Castro (Adviser), Dra. Ângela Maria Soares (Co-adviser).

3 INTRODUÇÃO

Popularmente conhecida como guaco, *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker (família Asteraceae) é utilizada como planta de propriedades medicinais em problemas respiratórios. Essa propriedade se deve à presença da cumarina (1,2 benzopirona) em grande quantidade em suas folhas (Oliveira et al., 1984; Simões et al., 1998).

A Farmacopéia Brasileira I recomenda o uso de *Mikania glomerata*, indicando a folha como parte utilizada. Porém, a espécie predominante no Sul e Sudeste do país é a *Mikania laevigata*, distribuindo-se de São Paulo até o Rio Grande do Sul (Simões et al., 1998).

No entanto, há poucos relatos, na literatura, acerca de informações no que diz respeito à anatomia destas espécies em relação às variações de fatores do ambiente.

A anatomia foliar pode ser influenciada de forma marcante pela radiação recebida durante o crescimento. Isso porque a folha é um órgão muito plástico e sua estrutura interna adapta-se às condições do ambiente, evidenciando o potencial de aclimatação das espécies vegetais (Hanba et al., 2002; Schluter et al., 2003), sendo altamente especializada para a absorção de luz, visto que as propriedades do mesófilo, principalmente as do parênquima paliádico, garantem a absorção uniforme da luz através da folha.

Segundo Taiz & Zeiger (2004), em geral, as folhas de sol são mais espessas e apresentam células paliádicas mais longas do que as de sombra. O aumento na espessura foliar, especialmente pela alongação ou adição de células paliádicas, é associado a uma redução na resistência do mesófilo ao dióxido de carbono (Nobel, 1975), que pode levar a uma taxa fotossintética foliar mais elevada a pleno sol, em comparação com as plantas crescidas à sombra (Bjorkman, 1981). Gonçalves (2001) observou que plantas de *Ocimum selloi*

Benth. cultivadas em radiação solar plena, apresentaram maiores espessuras nos parênquimas foliares que as plantas cultivadas a 50% da radiação solar incidente; no entanto, o número total de estômatos e tricomas por folha foi maior nas plantas crescidas em sombreamento parcial.

Muitos trabalhos têm demonstrado que a qualidade da luz influencia muitos aspectos da anatomia foliar e do desenvolvimento das plantas (McMahon et al., 1995; Pons & Van Berkel, 2004; Rajapakse, 1999), as quais modificam especificamente a luz nas regiões espectrais do ultravioleta, do visível ou do vermelho-distante, aumentando a quantidade de luz difusa em seu interior (Oren-Shamir et al., 2001). Segundo os autores, a malha azul, ao contrário da malha vermelha, não reduz a razão V/VD do espectro da luz difusa, mas eleva suavemente esta relação.

A qualidade espectral pode afetar a biossíntese de compostos químicos, como também estruturas anatômicas das folhas, exercendo efeitos durante a expansão foliar, fazendo com que as plantas exibam um alto grau de plasticidade fisiológica e anatômica para mudanças na qualidade de luz (Lee et al., 2000; Schuerger et al., 1997).

Essas técnicas de alteração espectral pelo uso de sombrite colorido são bastante promissoras no desenvolvimento das plantas (Grinberger et al., 2000) principalmente em relação aos efeitos morfoanatômicos e fisiológicos e as respostas variam de acordo com a espécie estudada (Kim et al., 2004)

Lee et al. (2000), estudando o efeito do ambiente luminoso em relação à densidade de fluxo de fótons fotossintético (400-700nm) e à qualidade da luz sobre a estrutura e função de duas espécies de *Hopea*, espécies nativas do Sudoeste da Ásia, verificaram que os tratamentos afetaram significativamente a morfologia foliar, a anatomia, a composição dos pigmentos e as propriedades ópticas. De acordo com estes autores, a forma das células do parênquima paliçádico, particularmente a largura máxima, foi influenciada pelas condições

de luz; onde uma baixa relação vermelho:vermelho-distante reduziu ligeiramente a largura das células do parênquima paliçádico nas espécies.

Em relação ao efeito da qualidade de luz sobre a ultra-estrutura dos cloroplastos, Leong et al. (1985) observaram que não houve nenhuma diferença no número de tilacóides na pilha do grana sob luz vermelha, branca e azul. Em relação ao número de cloroplastídeos por célula, Dignart (2006) relatou que os maiores valores foram observados em plântulas submetidas ao cultivo em casa de vegetação sob malha azul. De acordo Saebo et al. (1995) e Schuerger (1997), a luz azul é um importante fator ambiental para a formação e o desenvolvimento de cloroplastos em plantas superiores. Esta conclusão foi confirmada pelos estudos de estrutura de cloroplastídeos e atividade de transporte de elétrons de folhas de plantas crescidas sob luz azul e vermelha.

Neste trabalho, o objetivo foi verificar o efeito da qualidade de luz, com uso de malhas coloridas sobre as características da anatomia foliar e ultra-estrutura de cloroplastídeos das folhas de guaco (*Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex. Baker).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no período de março a outubro de 2005, no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), município de Lavras, na região Sul do estado de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW,

As mudas foram formadas a partir de estacas de 15 cm, contendo dois pares de folhas, as quais foram colocadas em bandeja de isopor contendo substrato Plantmax[®]. A propagação das mudas ocorreu em casa de vegetação do Horto de Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da UFLA, com

umidade relativa de 75% e temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 50 dias.

Após este período, as estacas foram transplantadas para tubo de PVC com capacidade para 3 L, contendo substrato, o qual foi constituído por uma mistura de vermiculita, esterco bovino decomposto e terra de subsolo, na proporção 2:3:5. Posteriormente, foram transferidas para viveiros com nível de sombreamento 50% de transmitância na região fotossinteticamente ativa, com o uso de malhas coloridas ChromatiNET vermelho, azul e cinza (Polysack Plastic Industries), conforme a especificação do fabricante e um tratamento a pleno sol (0% de sombreamento) como testemunha. Vale salientar que todas essas malhas são produzidas com aditivos especiais que as convertem em singulares filtros de luz.

Em razão do hábito trepador das espécies utilizadas, as plantas foram tutoradas por meio de estacas de bambu, permanecendo em condições de casa de vegetação pelo período de 120 dias. Durante esse período de condução, as mudas foram diariamente irrigadas.

Na caracterização anatômica, foram utilizadas 10 folhas completamente expandidas da parte mediana da planta (folhas do terço médio do ramo) de cada tratamento e, posteriormente, fixadas em álcool 70%. Os cortes foram realizados à mão livre, na região mediana das folhas, com a utilização de lâmina de aço e submetidos à clarificação em solução de 50% de hipoclorito de sódio. Em seguida, foram lavadas em água destilada, neutralizadas em solução acética a 1% e montadas em glicerina a 50%. A coloração com safranina e azul de astra foi realizada de acordo com os métodos descritos por Bukatsch (1972).

A determinação da densidade estomática foi realizada em seções paradermicas manuais na parte mediana de cada folha na epiderme na face abaxial e submetida ao processo de coloração com safranina a 0,1%, em água glicerinada. As observações foram realizadas em microscópio Olympus CBB, com o auxílio de uma câmara clara, segundo Labouriau et al. (1961), em quatro

campos da região mediana de 5 folhas provenientes de plantas distintas, perfazendo um total de 20 campos por tratamento. Os diâmetros polar e equatorial dos estômatos foram medidos em microscópio Ken-a-vision 2100, na face abaxial da epiderme.

O preparo e a observação das amostras para microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-estrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da UFLA. Fragmentos de 0,5 cm² foram retirados de cinco folhas de cada tratamento, localiza no terceiro nó abaixo do ápice e fixados em solução Karnovsky (glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%), em tampão cacodilato, pH 7,0, 0,05M + CaCl₂ 0,001M) por um período de 48 horas, lavado em tampão cacodilato, pós-fixado em tetróxido de ósmio 1% por 4 horas. Em seguida foram transferidas para solução a 0,5% de acetato de uranila, por 12 horas, a 4°C. Posteriormente, iniciou-se o processo de desidratação em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100% três vezes por 10 minutos), incluídas em série crescente acetona/resina Spurr 30% (8 horas), 70% (12 horas) e 100% (2 vezes de 24 horas), sendo os espécimes montados em moldes e polimerizados em estufa, a 70°C. Os blocos obtidos foram desbastados e cortados em seções semifinas (1µm) e ultrafinas (<100nm), utilizando-se um ultramicrotomo Reichert-Jung, com navalha de diamante. Os cortes ultrafinos foram coletados em grades de ouro (*golden slot grids*), secos em raques de alumínio cobertos com formvar (Rowley & Moran, 1975). As seções foram pós-contrastadas em acetato de uranila, seguido por acetato de chumbo, por 3 minutos cada e, em seguida, examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM 902 a 80Kv. As características observadas para as análises ultra-estruturais foram o número, a área, o perímetro e o comprimento dos cloroplastos em células do parênquima paliádico.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar 4.3 (Ferreira, 1999).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas seções transversais da lâmina foliar, observou-se variação na espessura da epiderme foliar das faces abaxial e adaxial (Tabela 1). Para os diferentes tratamentos, a epiderme adaxial foi mais espessa nas condições de sombreamento com malha azul e cinza e em condições de pleno sol, diferindo das condições sob sombreamento com malha vermelha, enquanto que a espessura da epiderme abaxial foi maior nas plantas crescidas sob malha azul, não diferindo das plantas crescidas a pleno sol. Castro (2002), estudando a influência dos diferentes níveis de sombreamento em planta de guaco (*Mikania glomerta*), observou que a epiderme foi mais espessa nas condições de pleno sol.

Em relação à espessura do limbo, ela foi maior em plantas de guaco cultivadas sob malha azul, quando comparadas às dos demais tratamentos, os quais não diferiram estatisticamente, variando apenas entre valores, e a menor espessura do limbo foliar foi encontrada nas folhas cultivadas sob sombreamento com malha vermelha (Tabela 1). Entretanto, na maioria dos casos observa-se também uma redução da espessura foliar sob radiação vermelha (Schuerger et al., 1997).

Foi observado maior alongamento das células do parênquima paliádico e maiores espaços intercelulares no parênquima lacunoso nas folhas a pleno sol e

sob luz azul, evidenciando, nesta condição, um crescimento vegetativo mais vigoroso. Segundo Silva & Anderson (1985), nas plantas crescidas em altas intensidades luminosas, o mesofilo é, geralmente, mais desenvolvido, com as células do parênquima paliçádico mais altas e justapostas.

De acordo com Larcher (2004), nos espaços intercelulares a radiação é totalmente refletida. Dessa forma, pode-se inferir que a maior quantidade de espaços intercelulares presentes em plantas crescidas sob forte radiação constitui um mecanismo adaptativo para a reflexão do excesso de radiação.

Por outro lado, verificou-se que houve diferença significativa com relação ao parênquima lacunoso nas plantas cultivadas sob malha azul e vermelha, aquela diferiram estatisticamente da malha cinza e das condições de pleno sol, enquanto que, no parênquima paliçádico, só a malha vermelha diferiu estatisticamente dos demais tratamentos. Este aumento do parênquima sob malha azul e, conseqüentemente, do limbo foliar é uma característica importante ao processo fotossintético. Folhas com parênquima paliçádico mais espesso apresentam coeficiente de extinção da luz mais alto, portanto, espera-se que tais folhas tenham maiores taxas fotossintéticas (Bolhar-Nordenkampf & Draxler, 1993).

Atroch (1999) verificou que, em *Bauhinia forticata* Link., os espaços intercelulares no parênquima paliçádico, e principalmente no esponjoso, foram mais evidentes nas folhas de plantas crescidas no sombreamento de 50%, em relação às cultivadas a pleno sol.

TABELA 1. Espessura média da epiderme das faces adaxial e abaxial, parênquima paliçádico e parênquima lacunoso de plantas jovens de *Mikania laevigata* submetidas a diferentes condições de luminosidade. F: limbo foliar; AD:epiderme adaxial; PP: parênquima paliçádico; PL: parênquima lacunoso; AB: epiderme abaxial.

Sombreamentos	AD	PP	PL	AB	LF
Espessura (μm)					
Malha Vermelha (50%)	15,75 b	84,55 b	118,80 c	14,82 b	233,92 b
Malha Cinza (50%)	19,68 a	104,76 a	130,70 b	15,87 b	271,01 a
Malha Azul (50%)	21,24 a	119,81 a	162,00 a	18,27 a	319,17 a
Pleno Sol	20,22 a	117,66 a	136,62 b	18,09 a	294,74 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$ (n=10).

Evans (1999) afirma que existe uma estreita relação entre os espaços intercelulares e as espessuras de parede celular na condutância interna de CO_2 , uma vez que essa condutância é constituída da difusão de gases através dos espaços intercelulares e da difusão líquida entre a parede celular e os sítios de carboxilação.

As variações na anatomia foliar observadas em *M. laevigata* se assemelham às de outras espécies submetidas a diferentes regimes de luz. Zanela (2001) observou que plantas de *Hymenaea courbaril*, *Maclucra tinctoria* e *Acacia mangium*, quando cultivadas a pleno sol, apresentam folhas mais espessas devido ao aumento da espessura do mesofilo e dos parênquimas paliçádico e lacunoso.

A anatomia foliar é altamente especializada para a absorção de luz. As propriedades do mesofilo, sobremaneira a do parênquima paliçádico, garantem a otimização da absorção de luz. Com os dados obtidos neste trabalho, pode-se considerar que plantas de guaco são passíveis de adaptação às condições de sol e

sombra, haja vista a plasticidade adaptativa das folhas às diferentes condições de luminosidade.

De acordo com Sert (1992), folhas de sombra são mais finas que as de sol, devido ao consumo de assimilados para a expansão da área foliar. Em *Fragaria virginiana* Mill., uma espécie adaptada à sombra, quando se aumenta a intensidade da luz, observa-se um aumento na quantidade de tecidos no mesófilo, favorecendo o desenvolvimento de tecido paliçádico, o que é evidenciado pelo aparecimento de várias camadas bem organizadas, as quais elevam significativamente a capacidade fotossintetizante.

Quanto à densidade estomática, as plantas cultivadas em malha azul apresentaram maior densidade, quando comparados aos demais tratamentos, indicando que o ambiente de cultivo rico em comprimentos de onda na faixa do azul do espectro pode estimular a produção de estômatos na face abaxial das folhas de *M. laevigata*, apesar de não apresentar diferença dos demais tratamentos (Tabela 2). Já as plantas cultivadas em condições de pleno sol, apesar de não serem diferentes das plantas cultivadas sob sombreamento com malhas coloridas, em termos numéricos, apresentaram valores inferiores.

Entretanto, segundo resultados encontrados para outras espécies, geralmente ocorre um aumento na frequência e no índice estomático, à medida que aumenta a intensidade luminosa, ou seja, em plantas mantidas a pleno sol (Bjorkman & Holmgren, 1963; Lee et al., 1997), ao contrário dos resultados encontrados neste trabalho. Outros estudos têm demonstrado, ainda, a relação positiva entre o número de estômatos e a taxa fotossintética (Castro, 2002). Alguns autores (Abrams, 1987; Boardman, 1977; Medri & Lleras, 1980; Wiebel et al., 1994) inferem que o aumento na densidade estomática permite que a planta eleve a condutância de gases e, assim, evite que a fotossíntese seja limitada sob diferentes condições de ambientais.

TABELA 2. Número de estômatos, diâmetro polar e equatorial de estômatos de folhas de *Mikania laevigata* submetidas a diferentes condições de luminosidades.

Sombreamentos	Número de estômatos/mm ²	Diâmetros	
		Polar	Equatorial (µm)
Malha Vermelha (50%)	136,16 a	32,98 b	23,14 b
Malha Cinza (50%)	155,40 a	35,66 a	26,03 a
Malha Azul (50%)	161,32 a	34,98 ab	25,40 a
Pleno Sol	133,16 a	36,99 a	27,09 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$.

Em *Ocimum selloi* Benth, a frequência e o número de estômatos na epiderme foliar em nível adaxial e abaxial foram significativamente diferentes nas plantas crescidas sob radiação solar plena e nas crescidas sob sombreamento de 50% (Gonçalves, 2001). Já em *Phaseolus vulgaris* L., a densidade dos estômatos foi maior em plantas cultivadas sob alta intensidade luminosa, entretanto, o número total de estômatos por folha permaneceu aproximadamente constante (Knecht & O'Leary, 1972).

Quantidade, distribuição, tamanho, forma e mobilidade dos estômatos são características específicas de cada espécie e podem se alterar em função das adaptações às condições ambientais (Larcher, 2004). Além do comportamento estomático, o número e o tamanho das células comuns da epiderme podem variar de maneira significativa entre plantas cultivadas em diferentes níveis de luz (Abrams & Mostoller, 1995). Essas adaptações das células comuns e especializadas da epiderme são fundamentais para o processo de adaptação das plantas a diferentes condições ambientais, otimizando, principalmente, o processo de trocas gasosas entre perda de água por transpiração e absorção de CO₂, necessários à fotossíntese.

Rocha (2005) afirma que a análise da densidade estomática não é um parâmetro muito confiável para a verificação da adaptabilidade anatômica de

uma espécie vegetal a um ambiente. Segundo este autor, uma forma segura de indicar a funcionalidade estomática seria o formato das células guarda e a relação entre o diâmetro polar e equatorial os estômatos. Khan et al. (2002) afirmam que quanto maior a relação diâmetro polar/equatorial, mais elipsóide será o formato do estômato, sendo este formato característico de estômatos funcionais, enquanto a forma arredondada está associada a estômatos que não apresentam funcionalidade normal.

O diâmetro polar e equatorial dos estômatos da face abaxial da epiderme variou em função dos tratamentos. O diâmetro equatorial foi menor nas plantas cultivada sob malha vermelha, a qual diferiu estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 2).

A capacidade de alterar a estrutura das folhas em resposta aos níveis de radiação é uma plasticidade adaptativa comum em espécies que apresentam amplo potencial de aclimatização.

A ultra-estrutura dos cloroplastos de lâminas foliares de *Mikania laevigata* é mostrada na Figura 1. Observa-se que a estrutura e o tamanho dos cloroplastos sofreram alterações, em virtude do ambiente de cultivo. Nos tratamentos a pleno sol, sob malhas cinza e vermelha, não foram observadas diferenças significativas quanto ao número de cloroplasto (Tabela 3); nas plantas crescidas sob malha azul, foi evidenciada a maior quantidade de cloroplastos por célula, a qual diferiu dos demais tratamentos. A luz azul é importante para o desenvolvimento de cloroplastos e tem se mostrado mais eficiente que a luz vermelha (Schuerger et al., 1997). No entanto, a exposição à luz vermelha e vermelha distante, durante o crescimento e desenvolvimento foliar, influencia significativamente o desenvolvimento dos cloroplastos (Leong et al., 1985).

Em todos os tratamentos, os cloroplastos foram observados próximos à parede celular; somente nas plantas mantidas sob malha vermelha algumas dessas organelas encontram-se dispersas no meio intracelular. De acordo com

alguns autores, espécies com mesofilo dorsiventral apresentam a grande maioria dos cloroplastos encontrados nas células do parênquima paliçádico. Devido à forma e ao arranjo dessas células, os cloroplastos podem se dispor paralelamente às paredes celulares, aumentando a eficiência fotossintética ou reduzindo os danos pelo excesso de luz (Menezes et al., 2003).

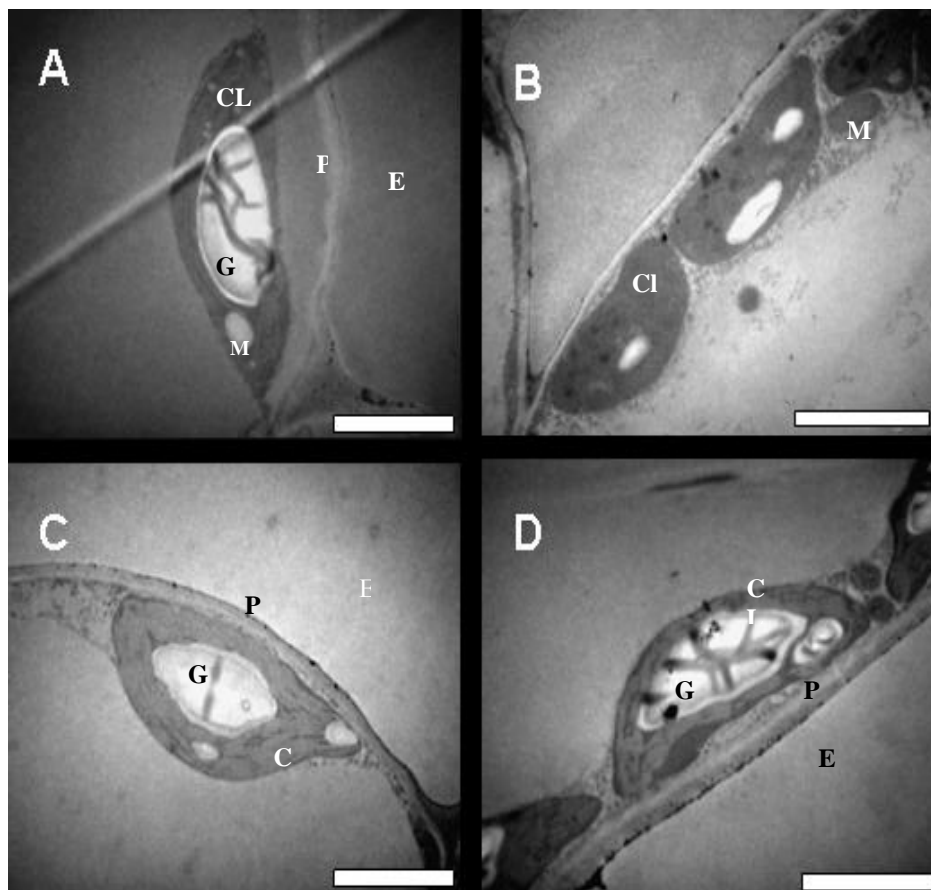


FIGURA 1. Eletromicrografia de transmissão eletrônica (MEV) mostrando cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima paliádico de lâminas foliares de *Mikania laevigata* submetidas a diferentes ambientes de luz com malhas coloridas. (A) Malha vermelha, (B) malha cinza, (C) malha azul e (D) pleno sol. Barra= 1 μ m. CL: cloroplasto; E: espaço intercelular; G: grão de amido no interior do cloroplasto; P: parede celular; T: tilacóide; M: mitocôndria. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Pelos resultados, constata-se que os maiores comprimentos de cloroplastos foram observados nas lâminas foliares submetidas aos tratamentos de pleno sol e sob a malha vermelha, em relação às submetidas ao

sombreamento com as malhas azul e cinza, o que caracterizou a presença de organelas mais alongadas. Quanto à área e ao perímetro dos cloroplastos, nota-se que houve um aumento nas plantas mantidas em pleno sol (Tabela 3).

Em todos os tratamentos, verificou-se a presença de grãos de amido (Figura 2) e estes não diferiram significativamente quanto à área e do perímetro nos tratamentos a pleno sol e sob malha azul. Nas plantas crescidas sob malha cinza, foram observados os menores valores de área e perímetro; as plantas mantidas sob malha vermelha apresentaram valores intermediários para estas características (Tabela 4).

TABELA 3. Número e tamanho de cloroplastos por célula do parênquima paliádico em plantas jovens de *Mikania laevigata* submetidas a diferentes condições de sombreamento.

Sombreamentos	Cloroplastos				
	Número/célula	Área (μm^2)	Perímetro (μm)	Comprimento (μm)	Largura (μm)
Malha Vermelha (50%)	3,75 b	7,74 a	14,07 a	5,86 a	1,86 b
Malha cinza (50%)	4,25 b	4,85 b	9,44 c	3,36 b	1,91 b
Malha azul (50%)	5,87 a	8,04 a	11,89 b	4,06 b	2,49 a
Pleno sol	3,25 b	8,55 a	14,41 a	5,96 a	2,09 ab

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$ (n=10).

TABELA 4. Área e perímetro de grãos de amido de plantas jovens de *Mikania laevigata* submetidas a diferentes condições de sombreamento.

Sombreamentos	Área (μm^2)	Perímetro (μm)
Malha vermelha (50%)	7,42 ab	11,81 ab
Malha cinza (50%)	4,57 b	9,56 b
Malha azul (50%)	8,38 a	12,58 a
Pleno sol	9,34 a	13,64 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$ (n=10).

Plantas que crescem sob forte radiação desenvolvem células no mesofilo ricas em cloroplasto e têm uma maior produção e um maior conteúdo energético da matéria seca. No entanto, diante dos resultados, observa-se que não apenas a intensidade, mas também a qualidade de luz é determinante para que se desenvolvam células do mesofilo ricas em cloroplastos e grãos de amido com dimensões similares.

O uso de malhas coloridas promove alterações morfológicas, anatômicas e ultra-estruturais em *Mikania laevigata*, a qual apresenta grande plasticidade fenotípica em função dos tratamentos de qualidade de luz, tendo a luz vermelha promovido um acelerado alongamento das células.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, M. D.; MOSTOLLER, S. A. Gas exchange , leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understore sites during a drought. **Tree Physiology**, Victoria, v. 15, n. 6 p. 361-370, June, 1995.

ATROCH, E. A. C. **Aspectos fisiológicos, anatômicos e biossíntese de flavonóides em plantas jovens de *Bauhinia forticata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância.** 1999. 62 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BJORKMAN, O.; HOLMGREN, P. Adaptability of photosynthetic apparatus to light intensity in ecotypes from exposed and shade habitats. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 16, n. 4, p. 889-915, 1963.

BJORKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O. L. et al. (Ed.). **Encyclopedia of plant physiology new series.** Berlin: Springer-Verlag, 1981. v. 12a, p. 57-107.

BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 28, p. 355-377, 1977.

BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; DRAXLER, G. Functional leaf anatomy. In: HALL, D. O. et al. **Photosynthesis and production in a changing environment**. London: Chapman e Hall, 1993. p. 91-112.

BUKATSCH, F. Benerkrugen zur doppelfarbung astrablausafranina. **Microkosmos**, Stuttgart, v. 61, p. 255, 1972.

CASTRO, E. M. **Alterações anatômicas, fisiológicas e fitoquímicas em plantas de *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento**. 2002. 221 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DIGNART, S. L. **Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas**. 2006. 132 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

EVANS, J. R. leaf anatomy enables more equal access to light and CO₂ between chloroplasts. **New Phytologist**, Cambridge, v. 143, n. 1, p. 93-104, July 1999.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3-Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

GONÇALVES, L. A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth (Lamiaceae)**. 2001. 95 p. Dissertação (Mestrado em Botânica)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GRINBERGER, A; SHOMRON, M.; GANELEVIN, R. **Shading nets testing**. 2000. Disponível em: <http://www.polysack.com/index.php>.

HANBA, Y. T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. **Plant Cell and Environment** Oxford, v. 25, n. 8, p. 1021-1030, Aug. 2002.

KHAN, P. S. S. V.; KOZAI, T.; NGUYEN, Q. T.; KUBOTA, C.; DHAWAN, V. Growth and net photosynthetic rates of *Eucalyptus tereticornis* Smith under photomixotrophic and various photoautotrophic micropropagation conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 71, n. 2, p. 141-146, Nov. 2002.

KNECHT, G. N.; O'LEARY, J. W. The effect of light intensity on stomatal density of *Phaseolus vulgaris* leaves. **Botanical Gazette**, Chicago, v.133, n.2, p.132-134, Feb. 1972.

KIM, S-J.; HAHN, E-J.; HEO, J.; PAEK, K-Y. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 101, n. 1/2, p. 143-151, May 2004.

LABOURIAU, L. G. et al. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 237-257, set. 1961.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004. 531 p.

LEE, D. W.; OBERBAUER, S. F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMED, H.; YAP, S. K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian Hopea (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 4, p. 447-455, Apr. 2000.

LEONG, T.; GOODCHILD, D. J.; ANDERSON, J. M. Effect of light quality on the composition, function and structure of photosynthetic thylakoid membranes of *Asplenium australicum* (Sm.) Hook. **Plant Physiology**, Rockville, v. 78, n. 3, p. 561-567, 1985

McMAHON, M. J.; KELLY, J. W. Anatomy and pigments of chrysanthemum leaves developed under spectrally selective filters. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 64, n. 3, p. 203-209, Nov. 1995.

MENEZES, N. L.; SILVA, D. C.; PINNA, G. F. M. Folha. In: APPEZZATO-DAGLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia vegetal**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 438 p.

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**, Bethesda, v. 55, n. 6, p. 1067-1070, June 1975.

OLIVEIRA, F.; SAITO, M. L.; GARCIA, L. O. Caracterização cromatográfica em camada delgada do extrato fluido de Guaco – *Mikania glomerata* Sprengel. **LECTA**, Bragança Paulista, v. 11, n. 1, p. 43-56, 1984.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E. E.; SHPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; OVADIA, R.; GILLER, Y. E.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum* **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May. 2001.

PONS, T. L.; VAN BERKEL, Y. E. M. de J. Species-specific variation in the importance of the spectral quality gradient in canopies as a signal for photosynthetic resource partitioning. **Annals of Botany**, London, v. 94, n. 5, p. 725-732, Nov. 2004.

ROWLEY, C. R.; MORAN, D. T. A simple procedure for mounting wrinkle free section on formvar-coated slot grids. **Ultramicrotomy**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 151-155, 1975.

RAJAPAKSE, N. C.; YOUNG, R. E.; McMAHON, M. J.; OI, R. Plant height control by photoselective filters: current status and future prospects. **Horttechnology**, Alexandria, v. 9, n. 4, p. 618-624, Oct./Dec. 1999.

SAEBO, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy de birch plantlets in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 41, n. 2, p. 177-185, May 1995.

SERT, M. A. **Anatomia foliar e teores de clorofila em três variedades de soja0 [*Glycine Max L.*] MEDRILL] e dois níveis de radiação solar**. 1992, 66p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-M.G.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C. S.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, Mar. 1997.

SCHLUTER, U.; MUSCCHAK, M.; BERGER, D.; ALTMANN, T. Photosynthetic performance of an *Arabidopsis* mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 383, p. 867-874, Feb. 2003.

SILVA, E. A. M.; ANDERSON, C. E. Influência da luz no desenvolvimento foliar do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 32, n. 179, p. 1-11, jan./fev. 1985.

SIMOES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STELMANN, J. R. **Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul**, 5ª ed., Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira “prata anã”: alterações morfoanatômicas**. 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

WIEBEL, J.; CHACKO, E. K.; DOWNTON, W. J. S.; LUDDERS, P. Influence of irradiance on photosynthesis, morphology and growth of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) seedlings. **Tree Physiology**, Vitoria, v. 14, n. 3, p. 263-274, Mar. 1994.

ZANELA, S. M. **Respostas ecofisiológicas e anatômicas ao sombreamento em plantas jovens de diferentes grupos ecológicos**. 2001. 79f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CAPÍTULO IV

**INFLUÊNCIA DA QUALIDADE ESPECTRAL, ATRAVÉS DE MALHAS
COLORIDAS, NO TEOR DO ÓLEO ESSENCIAL E CONTEÚDO DE
CUMARINA DE PLANTAS DE *Mikania glomerata* Sprengel E *Mikania
laevigata* Schultz Bip. Ex Baker (GUACO)**

1 RESUMO

SOUZA, Girlene Santos de. Influência da qualidade espectral, através de malhas coloridas, no teor do óleo essencial e conteúdo de cumarina de plantas de *Mikania glomerata* Sprengel E *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker (guaco). In:_____. **Desenvolvimento vegetativo, características anatômicas e fitoquímicas de plantas jovens de duas espécies de guaco, submetidas a diferentes condições de qualidade de radiação.** 2006. cap. 4, p. 95-118. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Neste trabalho, o objetivo foi estudar o efeito da redução de 50% da radiação fotossinteticamente ativa com uso de malhas coloridas no teor do óleo essencial de duas espécies de guaco e também no conteúdo de cumarina. Para a quantificação do teor de óleo essencial, foi realizada a extração pelo método de hidrodestilação e a identificação da composição deste óleo foi realizada por cromatografia gasosa. A extração de cumarina foi realizada pelo método a quente, em banho-maria, a 78°C, e a identificação e a quantificação foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Em função dos resultados obtidos, pôde-se concluir que o sombreamento parcial proporcionou maior teor de óleo essencial, tendo as plantas de *Mikania laevigata* crescidas sob malha cinza produzido 226% mais óleo essencial que as plantas a pleno sol, enquanto que, para a espécie *Mikania glomerata* ocorreu aumento nas plantas cultivadas sob malha azul. O menor teor de óleo para ambas as espécies foram obtidos de plantas cultivadas a pleno sol. Portanto, a utilização de malhas de transmissão de luz na faixa do cinza e do azul foi apropriada para a obtenção de maior teor de óleo essencial nas duas espécies de guaco. O conteúdo de cumarina foi superior em plantas de *Mikania glomerata*, independente do tratamento aplicado.

* Comitê Orientador: Dr. Evaristo Mauro de Castro (Orientador), Dra. Ângela Maria Soares (Co-orientador).

2 ABSTRACT

SOUZA, Girlene Santos de. Influence of the spectral quality, through the use of colored net on the essential oils production and coumarin content in *Mikania glomerata* sprengel E *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker (guaco). In:_____. **Vegetative development, anatomic characteristics and phytochemistry of young plants of two species of guaco under different radiation quality conditions.** 2006. Chap. 4, p. 95-118. Thesis (Doctor degree in Agronomy/Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil.*

This study evaluated the effect of the reduction of 50% of the photosynthetic active radiation through the use of colored net on the essential oil content and composition and coumarin content of two *Mikania* species. The essential oils were extracted by hydro-distillation and the identification of the oils was made using a gas chromatograph. Cumarine was extracted by the hot method, using water bath at 78°C and the identification and quantification were made by high efficiency liquid chromatography (CLAE) Colored net influenced the quantity of essential oils extracted from Guaco leaves. For both *Mikania glomerata* and *Mikania laevigata*, the highest amount of essential oil was obtained from plants growing under blue net and the lowest for plants fully exposed to the sun. Regardless of the treatments studied, *Mikania glomerata* presented the highest coumarin content.

* Commite Members: Dr. Evaristo Mauro de Castro (Adviser), Dra. Ângela Maria Soares (Co-adviser).

3 INTRODUÇÃO

O emprego de plantas medicinais é uma prática milenar que ultrapassou todas as barreiras e obstáculos durante o processo de evolução tecnológica e chegou aos dias atuais, sendo amplamente utilizada por grande parte da população mundial como fonte de recurso terapêutico eficaz (Cragg et al., 1997).

Entre várias plantas medicinais usadas na medicina popular no Brasil, plantas do gênero *Mikania*, da família Asteraceae, um subarbusto trepador, conhecido popularmente como guaco (Celeghini et al., 2001), se destaca por causa de suas múltiplas propriedades farmacológicas, principalmente atividades antiinflamatórias, antialérgicas, analgésicas e antimicrobiais (Fierro et al., 1995; Paul et al., 2000; Yatsuda et al., 2001, 2002). O gênero *Mikania* tem, aproximadamente, 430 espécies distribuídas nas áreas tropicais de África, Ásia e América (King & Robinson, 1987). No Brasil, o gênero é distribuído amplamente, concentrando-se nas regiões Sul e Sudeste, com aproximadamente 200 espécies descritas. Porém, só 10% de espécies de *Mikania* têm sido quimicamente estudadas (Fabbri et al., 1997), dentre as quais destacam-se *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker e *Mikania glomerata* Sprengel.

Há muito tempo, a medicina popular receita o guaco para problemas respiratórios, pois estudos relacionados à atividade antiinflamatória justificam seu emprego terapêutico (Suyenaga et al., 2002). Uma das substâncias que conferem identidade ao guaco é a cumarina (1,2-benzopirona), por existir em grande quantidade em suas folhas (Oliveira, 1984). Acredita-se que esta substância seja formada durante o processamento da planta, por meio da lactonização do ácido α -cumárico por ação enzimática e pelo calor (Dewick, 2002). Além disso, quinze compostos foram identificados e isolados, como o ácido cumárico, sesquiterpenos e diterpenos (Limberger et al., 2001), sendo a

cumarina o principal deles (Vilegas et al., 1997). Alguns desses compostos, como o ácido cauneróico, apresentam atividade antimicrobiana e antifúngica contra alguns patógenos como descrito por Davino et al. (1989).

Os vegetais apresentam grande flexibilidade quimiossintética para produzir micromoléculas como as que compõem as misturas químicas complexas que são os óleos essenciais. Na fitoterapia, estes, por sua vez, destacam-se pelas suas propriedades antibactericida, analgésica, sedativa, expectorante, estimulante e estomáquica (Silva & Casali, 2000). Além disso, os óleos essenciais possuem importância ecológica, especialmente como inibidores da germinação, proteção contra predadores, atração de polinizadores, proteção contra perda de água e aumento da temperatura (Gottlieb et al., 1987). Pesquisas recentes indicam grande variação na produção de metabólitos essenciais nas plantas medicinais, de acordo com suas relações ecológicas, que variam continuamente com o tempo e o espaço (Castro et al., 2001).

Independentemente de sua composição química, os óleos essenciais são sintetizados e armazenados pelas plantas em estruturas anatômicas especializadas, tais como idioblastos, cavidades, canais e tricomas glandulares (Fahn, 1975), e podem estar envolvidos em vários dos aspectos da interação animal-planta, planta-microrganismo e da interferência planta-planta (Gottlieb & Salatino, 1987).

A biossíntese dos metabólitos secundários e, conseqüentemente, dos princípios ativos em plantas medicinais, depende de fatores genéticos, fisiológicos e ambientais. Assim, os fatores que influenciam as variações nas concentrações destes princípios em plantas devem ser avaliados, visando obter uma matéria-prima de melhor qualidade, já que a qualidade das plantas medicinais está relacionada ao seu teor de princípios ativos e, portanto, à sua eficácia terapêutica. Entre os fatores ambientais, a luz atua de forma significativa e complexa no metabolismo e pode influenciar na produção de

princípios ativos, uma vez que afeta, direta ou indiretamente, a produção de fitomassa, a proporção de órgãos e as vias biossintéticas destes metabólitos, por melhorar a produtividade, a composição e a quantidade dos constituintes dos óleos essenciais (Chatterjee & Raychadheiri, 1995; Gonçalves, 2003), como também o teor de cumarina (Andrade, 2000; Castro et al., 2006).

Diferentes condições de cultivo podem ser estabelecidas, a fim de aumentar a concentração de princípios ativos em espécies medicinais. Para tanto, é necessário considerar as condições ambientais ótimas de cada espécie, uma vez que esses fatores proporcionam respostas diferenciadas, especialmente sobre os óleos essenciais.

Neste contexto, as malhas coloridas representam um novo conceito agrotecnológico, que objetiva combinar a proteção física, juntamente com a filtragem diferencial da radiação solar, para promover respostas fisiológicas desejáveis, reguladas pela luz (Shahak et al., 2004). De modo diferente das casas de vegetação, as malhas exercem menor interferência sobre o microclima da planta; entretanto, são capazes de modificar tanto a quantidade como a qualidade da radiação solar transmitida, determinando modificações ópticas da dispersão e reflectância da luz (Oren-Shamir et al., 2001).

Assim, à vista do potencial de *Mikania laevigata* e *Mikania glomerata* e diante da carência de informações acerca do papel da luz na produção de compostos essenciais nas plantas do ponto de vista fisiológico, neste estudo visou-se avaliar o efeito das malhas de transmissão de luz diferenciada sobre o teor de óleo essencial e cumarina dessas espécies.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), situada em Lavras, MG, no período de março a outubro de 2005 e de abril a outubro de 2006, sob condições de casa de vegetação.

O município de Lavras está localizado na região Sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW. Segundo a classificação de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro e uma quente e úmida, de outubro a março.

As mudas utilizadas foram formadas a partir de propagação por estacas, em viveiro, com 50% de sombreamento, no Horto de Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da UFLA, durante um período de 50 dias. Foram utilizadas estacas de 15 cm de comprimento, retiradas do terço médio dos ramos, com duas gemas e colocadas em bandeja de isopor contendo substrato Plantmax®.

Após este período, as mudas foram transplantadas para tubo de PVC com capacidade de 3 L contendo substrato à base de terra de subsolo, vermiculita e esterco bovino decomposto, na proporção de 5:2:3. A vermiculita utilizada foi a de granulometria fina, com densidade aparente de 125 kg/m³; o esterco bovino foi curtido e peneirado e a terra foi retirada de um Latossolo Vermelho Escuro, a 30 cm abaixo da camada arável.

Posteriormente, as mudas de *M. glomerata* e *M. laevigata* foram submetidas aos tratamentos, os quais constituíram-se em diferentes malhas quanto ao espectro de luz transmitida, porém, com o mesmo índice de sombreamento de 50%, da seguinte forma: Tratamento 1- malha de transmissão

de ondas na faixa do vermelho próximo e vermelho-distante com, aproximadamente, 50% de sombreamento ChromatiNet Vermelha®; Tratamento 2- malha cinza de 50% de sombreamento e Tratamento 3- malha de transmissão de luz na faixa do azul e vermelho distante com, aproximadamente, 50% de sombreamento, ChromatiNet Azul®. Todas as malhas foram confeccionadas em polietileno de alta densidade mono-orientado. Como testemunha, foi utilizado um tratamento a pleno sol (0% de sombreamento).

A coleta das folhas para extração do óleo essencial foi realizada na região do ramo, na parte superior da planta, no horário entre 7 horas e 8h30, a partir de três plantas dos distintos tratamentos. O material coletado foi encaminhado imediatamente ao Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavas.

A extração do óleo essencial das folhas de guaco foi realizada pelo método de hidrodestilação por arraste de vapor d'água, utilizando-se aparelho Clevenger modificado, adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade de 1.000 mL (Ming et al., 1996), com aquecimento mantido na temperatura mínima necessária à ebulição.

A massa de planta utilizada na extração foi de, aproximadamente 50 g de planta fresca, previamente homogeneizada. Depois foi adicionada água destilada em volume suficiente para cobrir o material, iniciando-se o processo de hidrodestilação, pela técnica de arraste de vapor de água extraíndo-se o óleo essencial. Esse processo durou 1 hora e 30 minutos, obtendo-se cerca de 100 ml de hidrolato.

Depois de obtido o hidrolato (mistura de água + óleo), procedeu-se ao particionamento com diclorometano (CH_2Cl_2), em funil de separação, separando-se a fase aquosa da orgânica. A fração orgânica (diclorometano e óleo essencial) foi transferida para um Erlenmeyer, sendo adicionado sulfato de magnésio anidro em excesso e deixando-se por cerca de 10 minutos, com a

finalidade de retirar a água remanescente. Então, a solução foi filtrada concentrada em evaporador rotativo a 38°C. Após a retirada de todo o solvente, obteve-se o óleo essencial, que foi pesado em balança analítica, com precisão de 0,0001 g (massa/massa).

Após a pesagem, os frascos foram fechados, vedados com parafilme e envoltos com papel alumínio, visando proteger da luz e armazenados, a 5°C, até o momento da análise cromatográfica.

Para a extração da cumarina, foram utilizadas cinco plantas por tratamento com, aproximadamente, 100 dias de idade. As folhas de toda a planta foram coletadas entre 7h30 e 9 horas. Posteriormente, foram acondicionadas em sacos de papel, devidamente identificadas e colocadas para secar em estufa a 35°C, até peso constante. A massa seca foi triturada em moinho até o diâmetro de 48 mesh.

A metodologia de quantificação de cumarina foi realizada de acordo Dutra (2005 - modificado), em que amostras de 1 g de matéria seca foram submetidas à extração em 10 mL de solução etanol/água (1:1 v/v), em banho-maria, a 78°C, por 15 minutos. Após resfriamento, o extrato etanólico foi filtrado sob vácuo. Posteriormente, foram transferidos 5 mL da solução para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água-metanol (53:47). Em seguida, transferiram-se 5 mL dessa solução para Eppendorf e centrifugou-se, a 10.000 rpm, por 10 minutos. O sobrenadante foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-FR), utilizando-se cromatógrafo da marca Shimadzu, modelo LC-10 AD, com detector espectrofotométrico de absorvância UV e visível (arranjo de dados SPDM-M10A) sob as seguintes condições: coluna: ODS Hypersil, partículas de 5 µm, dimensões de 125 x 4 mm; detecção: UV a 275 nm; sistema de eluição: água-metanol (53:47) – isocrático; fluxo: 0,5 mL/min; tempo de análise: 15 minutos. O volume de

amostra injetado foi de 20 µL. As análises foram realizadas em triplicata (Farmacologia..., 2005 – modificado).

Para a curva de calibração, preparou-se uma solução estoque de cumarina padrão (1,2-benzopirona - Sigma, cod. C-4261), a 0,5 mg/mL, em metanol. A partir desta, foram preparadas soluções com concentrações na faixa de 0,005 a 0,08 mg/mL, completando-se os volumes dos balões com uma mistura de água-metanol (53:47). Essas soluções foram injetadas em quintuplicata, para a obtenção da curva de calibração (Alvarenga, 2005). Calculou-se o teor da cumarina na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva de calibração. O resultado foi expresso em gramas de cumarina por 100 gramas da droga (%) (Farmacologia..., 2005).

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade, empregando-se o programa para análises estatísticas SAS (1989).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de teores percentuais do óleo essencial de *M. glomerata* e *M. Laevigata* encontram-se na Figura 1, com as respectivas análises estatísticas. Os mesmo foram obtidos no período de coleta entre as diferentes malhas coloridas estudadas.

Conforme análise estatística realizada, o coeficiente de variação e o erro padrão da média para *M. glomerata* foram de 9,73% e 0,099, respectivamente, enquanto que, para *M. laevigata*, foi de 8,65% o coeficiente de variação e 0,010 o erro padrão, apresentando valores satisfatórios.

O rendimento de óleo essencial foi significativamente afetado pelas condições de luminosidade a que as plantas de guaco foram submetidas. Na Figura 1, observa-se que as plantas crescidas a pleno sol obtiveram menor teor de óleo, em relação aos tratamentos com sombreamento de 50%, para ambas as espécies. As plantas de *M. laevigata* sob malhas vermelha e azul não diferiram entre si, enquanto aquelas sob malha cinza apresentaram a maior produção percentual de óleo essencial (266% a mais em relação ao tratamento a pleno sol). Para *M. glomerata*, ocorreu aumento no teor de óleo nas plantas cultivadas sob a malha azul, que diferiu das malhas vermelha e cinza.

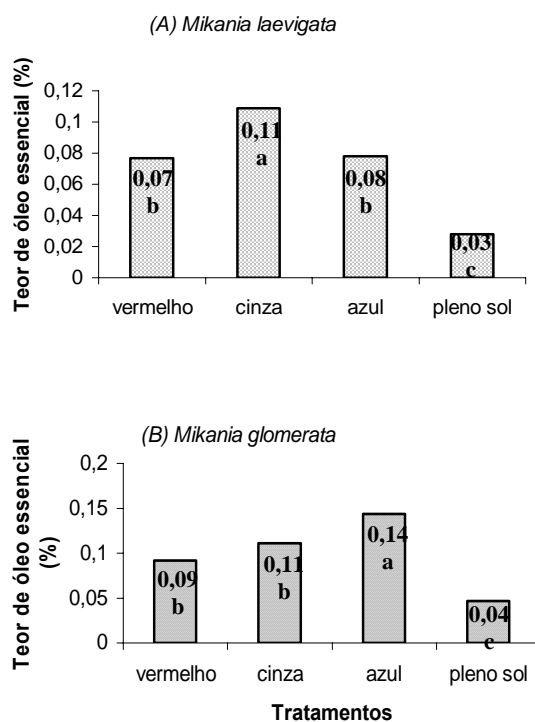


FIGURA 3. Teor de óleo essencial de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz. Bip. Ex. Baker (A) e *Mikania glomerata* Sprengel (B) submetidas à diferentes qualidade de luz, com uso de malhas

coloridas. UFLA, Lavras, MG, 2006. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Provavelmente, a cor da malha influenciou o desenvolvimento de estruturas anatômicas que secretam óleo, como células oleíferas, canais secretores e tricomas glandulares (Gonçalves, 2001). Também, a variação pode ser atribuída a fatores fisiológicos, à idade e a fatores climáticos (temperatura, fotoperíodo).

Pode-se inferir, portanto, que o sombreamento, sobretudo o proporcionado pela malha cinza e azul, pode promover a ativação das rotas do metabolismo secundário em *M. laevigata* e *M. glomerata*, respectivamente. Dentre as diversas enzimas importantes na biossíntese de moléculas presentes no óleo essencial, a fenilalanina amonialiase (PAL) tem sido considerada como reguladora na formação de muitos compostos fenólicos, inclusive o eugenol (Taiz & Zeiger, 2004). Loschke et al. (1981) observaram que a atividade da PAL aumentava quando plântulas de *Pisum sativum* L. eram submetidas à luz azul; o mesmo efeito foi verificado por Attridge (1974), trabalhando com *Cucumis sativus*.

O rendimento de óleo essencial obtido de folhas frescas de guaco, encontrado por Oliveira et al. (1999), foi de 0,26% (massa/volume). Nas espécies cultivadas na UFLA, o teor variou de 0,04% (pleno sol) a 0,14% (malha azul), para *Mikania glomerata* e de 0,03% a 0,11%, para *Mikania laevigata*, considerando o teor de água da planta fresca. Esta variação entre as espécies pode ser em função da época de coleta, pois, normalmente, as espécies medicinais possuem maior concentração de princípios ativos em determinados períodos do ano ou estágio de desenvolvimento vegetativo. Também, a maior concentração de óleo essencial pode ser atribuída a fatores genéticos e fisiológicos, a fatores climáticos, ao tipo de solo e à técnica de extração.

Plantas com rendimento acima de 1% são consideradas ricas em óleos essenciais, de acordo com Costa (1986). Portanto, as duas espécies de guaco em estudo não são consideradas ricas em óleo, nas condições avaliadas.

Comparando-se plantas cultivadas em pleno sol com plantas em condições de 50% de sombreamento, observa-se que as folhas que receberam radiação transmitida pelas malhas coloridas produziram mais óleo essencial do que as folhas de plantas cultivadas em condições de pleno sol. Estes resultados indicam que tanto a quantidade como qualidade de luz são limitantes para a produção de óleo essencial, tanto para *M. laevigata* como para *M. glomerata*.

Duas espécies da família Lamiaceae foram estudadas por Li et al. (1996), que avaliaram a produção de óleo essencial sob diferentes condições de sombreamento. Em *Thymus vulgaris*, a produção de óleo foi maior nas plantas crescidas em luminosidade total, diminuindo com o decréscimo dos níveis de luz. Por outro lado, em *Salvia officinalis*, as plantas crescidas no sombreamento parcial apresentaram o maior teor de óleo.

As variações nos percentuais dos teores de óleo essencial, em função de alterações na intensidade e qualidade espectral da radiação solar, evidenciam que o estabelecimento de condições luminosas específicas é fundamental para maximizar a produção de princípios ativos. As respostas celulares à luz são, provavelmente, indiretas. Elas devem resultar de mudanças localizadas no equilíbrio dos hormônios e metabólitos que, por sua vez, podem ser causadas por mudanças na permeabilidade da membrana mediada pelo fitocromo e mudanças enzimáticas resultantes da atividade de genes-chave (Tanaka et al., 1989).

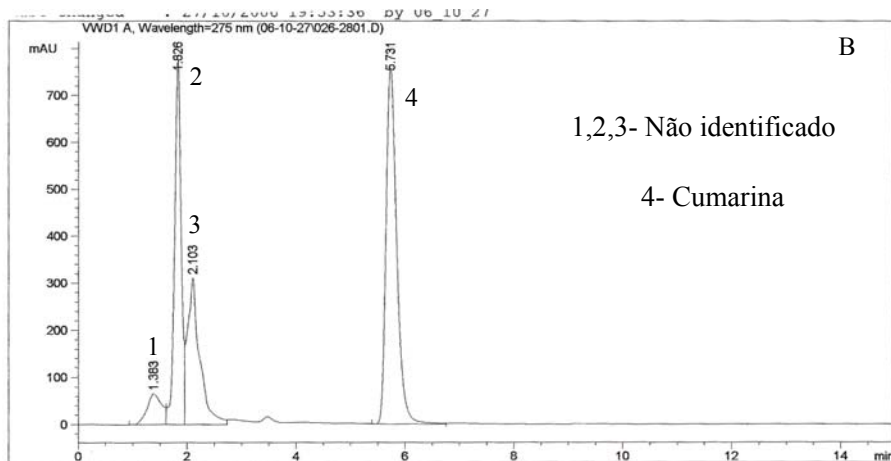
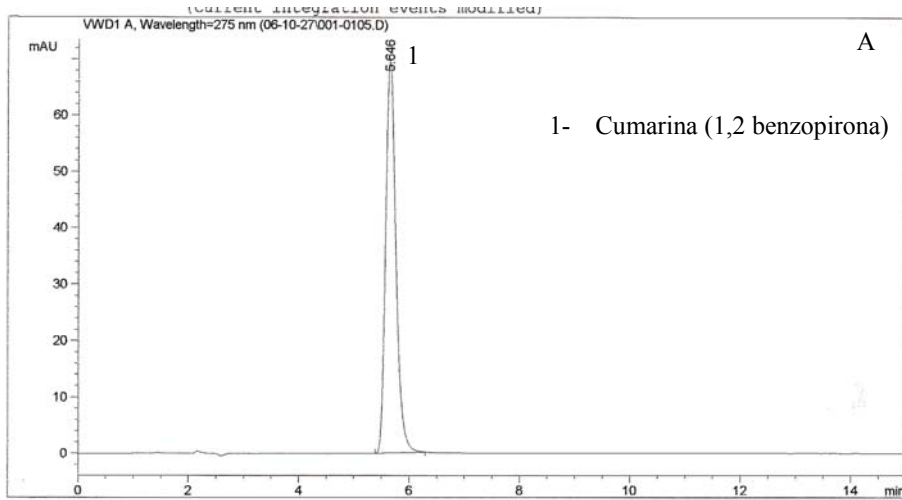
Os óleos essenciais podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como tricomas glandulares (Lamiaceae), idioblastos (Lauraceae, Piperaceae e Poaceae), canais oleíferos (Apiaceae) ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae e Rutaceae) (Simões & Spitzer, 2003).

As estruturas anatômicas nas quais os óleos essenciais são depositados evoluíram de células oleíferas, cavidades e canais secretores a tricomas glandulares. Estas estruturas caracterizam linhagens evolutivas de Angiospermas (Gottlieb & Salatino, 1987).

Segundo Oliveira et al. (1999), o óleo essencial de guaco é produzido principalmente, no interior de bolsas secretoras ou canais secretores em misturas com resina. Entretanto, o aumento do teor de óleo essencial nas plantas cultivadas sob malha cinza e azul pode ser devido ao fato de o óleo estar localizado em células oleosas específicas, que possuem estruturas especiais situadas no tecido parenquimatoso na lâmina e nas bordas das folhas.

Em relação à análise da cumarina, é apresentado apenas um cromatograma de cada espécie para exemplificação (Figura 2), porque, para os demais tratamentos de sombreamento com malhas coloridas, o perfil cromatográfico foi semelhante, variando apenas as concentrações. A exceção foi a espécie *M. laevigata*, que apresentou presença de cumarina somente nas folhas das plantas cultivadas em pleno sol.

Observa-se, pela Figura 2, alta possibilidade da presença de cumarina (1,2 benzapirona) nas amostras de folhas de *M. glomerata* e *M. laevigata*, em comparação entre o padrão e amostra. O tempo de retenção aproximado da cumarina foi de 5,7 minutos para ambas as espécies e o sinal anterior não pode ser identificado devido à falta de padrão, pois o mesmo não foi objeto de estudo neste trabalho.



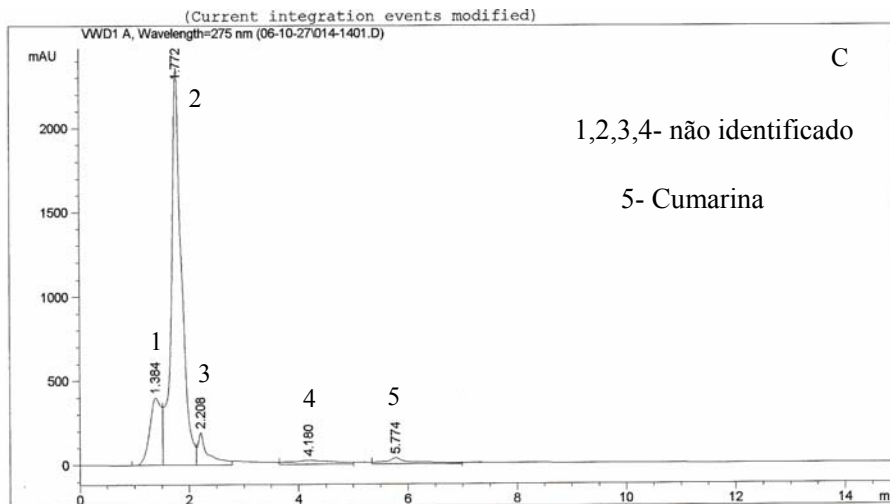


FIGURA 2. Perfil cromatográfico do padrão de cumarina (A) e de amostras obtidas de extrato metanólico de *Mikania glomerata* Sprengel (B) e *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex. Baker (C), realizada por CLAE. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Os teores de cumarina obtidos das folhas de *M. glomerata* e *M. laevigata*, submetidas ao efeito da radiação solar alterada por coberturas de malhas de cor vermelha, azul e cinza e em plantas cultivadas a pleno sol podem ser observados na Figura 3. Pode-se perceber que a cor da malha não influenciou na quantidade de cumarina extraída das folhas de *M. glomerata*, tendo os maiores valores numéricos sido verificados nas plantas cultivadas sob sombreamento.

Em relação à *M. laevigata*, não foi detectada a presença deste composto nas plantas cultivadas sob as malhas coloridas, porém, as plantas submetidas ao tratamento sem malha apresentaram um valor em torno de 0,099%, diferindo significativamente dos demais tratamentos. De acordo Rhder et al. (1998), o teor de cumarina em *Mikania laevigata* Schultz Bip, ex Baker não variou em plantas crescidas ao sol ou à sombra.

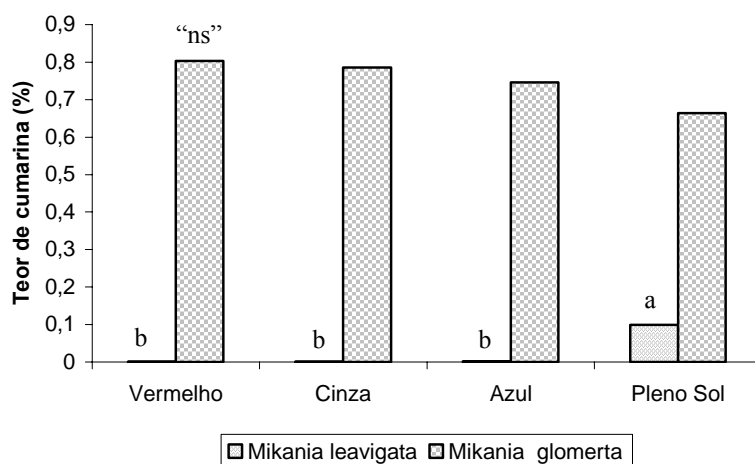


FIGURA 3. Teor de cumarina de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz. Bip. Ex. Baker submetidas à diferentes qualidade de luz com uso de malhas coloridas. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Em todos os tratamentos, os teores de cumarina foram superiores na espécie *M. glomerata*, independente do tratamento aplicado. Em *M. laevigata*, só houve efeito do tratamento a pleno sol, o qual foi superior aos demais, que não diferiram entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Há possibilidades de que, em determinados períodos do ano, ocorra maior acúmulo de princípios ativos, o que pode ser devido a fatores genéticos e fisiológicos da planta, variando o teor de princípios ativos ao longo do ano. A idade das folhas na planta pode ter influenciado nesta variação, pois, segundo Pereira et al. (2000), foi observado o maior teor de cumarina em folhas novas, próximo ao ápice do ramo. Isso pode ter ocorrido pelo fato de o tecido

meristemático ser o local de síntese de cumarina em *Mikania glomerata* e, então, translocada a outras partes da planta.

Os fatores climáticos podem ter contribuído para a síntese de cumarina, como, por exemplo, qualidade de luz, fotoperíodos, decréscimo da temperatura média, estresse hídrico, etc., estando de acordo com Pereira et al. (2000) que encontraram maior rendimento de cumarina em guaco no mês de julho e o menor em abril, com incremento quase linear entre esse período. Os autores afirmam que o maior rendimento de cumarina no mês julho ocorre porque, neste período, não há ocorrências de chuvas e a temperatura é baixa.

Há uma íntima relação entre o fator luz e a produção de metabólitos secundários, uma vez que todas as substâncias produzidas pela planta estão envolvidas, diretamente ou indiretamente, com a fotossíntese. Pela análise, a luz não interferiu no acúmulo de cumarina em *M. glomerata*, provavelmente a espécie que tem mais habilidade em produzir cumarina. Castro et al. (2006), comparando somente as folhas de plantas jovens cultivadas nos diferentes tratamentos de radiação na parte superior da planta, observaram que, em pleno sol, foram obtidos os maiores teores de cumarinas respectivamente em relação aos demais tratamentos. Isso, provavelmente, ocorreu devido a alterações morfofisiológicas da folha de *M. glomerata* sob diferentes níveis de radiação, demonstrando a associação estreita entre a adaptação anatômica e a eficiência em processos fisiológicos.

O estudo da influência de fatores que levam às variações na produção de metabólitos secundários de interesse é uma preocupação constante em trabalhos realizados com plantas medicinais, pois o conhecimento gerado pode maximizar a produção dos princípios ativos, melhorando a qualidade das drogas, sem, no entanto, acarretar em custos adicionais ao processo produtivo. Segundo Brown Jr. (1998), é possível utilizar o conhecimento dos fatores que influenciam na constituição química das plantas medicinais para fazer com que essas plantas

produzam as substâncias de atividade benéfica mais consistentemente, em maiores quantidades, mais acessíveis e mais fáceis de extrair, padronizar e utilizar.

Como comentado para os óleos essenciais, não há trabalhos científicos que descrevem o efeito da qualidade de luz no teor de cumarina. Pesquisas que objetivam elucidar as possíveis causas para esta variação merecem estudos por equipes multidisciplinares, haja vista a complexidade envolvida.

6 CONCLUSÕES

Os teores percentuais de óleo essencial das duas espécies de guaco variaram consideravelmente em função da intensidade e da qualidade da luz no ambiente de cultivo.

As plantas de guaco crescidas em condições de sombreamento parcial acumularam maior quantidade de óleo essencial que aquelas a pleno sol.

A qualidade espectral da radiação no ambiente sob malha azul e cinza proporcionou maior produção de óleo essencial por unidade de massa fresca, em relação às plantas sob pleno sol, para *M. glomerata* e *M. laevigata*, respectivamente.

Em relação ao teor de cumarina, não houve diferença do efeito de tratamento para as plantas de *M. glomerata*, enquanto que as plantas de *M. laevigata* apresentaram efeito significativo só naquelas cultivadas a pleno sol.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, F. C. R. **Controle de qualidade de folhas e tinturas hidroalcoólicas da espécie vegetal *Mikania glomerata* Sprengel**. 2005, 103 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Graduação em Farmácia, Centro Universitário Newton Paiva, Belo Horizonte, 2005.

ANDRADE, F.M.C. **“Homeopatia no crescimento e na produção de cumarina em chambá *Justicia pectoralis* Jacq”**. 2000. 214 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

ATTRIDGE, T. H.; SMITH, H. Density-labelling evidence for the blue-light mediated activation of phenylalanine ammonia lyase in *Cucumis sativus* seedlings. **Biochimica Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 343, n. 3, p. 452-464, 1974.

BROW JUNIOR, K. S. Engenharia ecológica: novas perspectivas de seleção e manejo de plantas medicinais. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 18, n. 1/2, suplemento, p. 291-303, mar./jun. 1998.

CASTRO, A. H. F.; YOUNG, M. C. M.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, J. D. Influence of photoperiod on the accumulation of allantoin in comfrey plants. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 1, p. 49-54, abr. 2001.

CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; MALTA, M. R.; CARDOSO, M. G.; SILVA, F. A. M. Coumarin Contents in young *Mikania glomerata* Plants (Guaco). under different Radiation Levels and Photoperiod **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 25, n. 3, p. 387-92, 2006.

CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. Extration and quantitative HPLC analysis of coumarin in hydroalcoholic extracts of *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 12, n. 6, p. 706-709, Nov./Dec. 2001.

CHATTERJEE, S. K.; RAYCHADHURI, S. P. Cultivation and quality improvement of medicinal plants in west Bengal. Recent advances in medicinal, aromatic and spice crops. (Volume 2). In: INTERNATIONAL CONFERENCE HELD, 1989, New Dalhi, India. 1CD-ROM.

- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 4. ed. Lisboa: Fundação Calloustre Gulbrkian, 1986. v. 3.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J.; SNADER, K. M. Natural products in drug discovery and development. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 60, n. 1, p. 52-60, Jan. 1997.
- DAVINO, S. C.; GIESBRECHT, A. M.; ROQUE, N. F. Antimicrobial activity of kaurenoic acid derivatives substituted on carbon-15. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 9, p. 1127-1129, 1989.
- DEWICK, R. B. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2. ed. London: West Sussex John Wiley & Sons, 2002. p. 142-147.
- DUTRA, B. A. **Validação da metodologia analítica de quantificação da cumarina (1,2-benzopirona) nas folhas de *Mikania glomerata* Sprengel por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa**. 2005. 62 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Graduação em Farmácia, Centro Universitário Newton Paiva, Belo Horizonte, 2005.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. (Sexto Fascículo).
- FABRI, H.; OLIVEIRA, D. R.; VICHNEWSKI, W.; HERZ, W. Diterpenes of *Mikania lindbergii* Baker. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 25, n. 6, p. 563-564, Sept. 1997.
- FAHN, A. **Plant anatomy**. Toronto: Pergamon Press, 1975. 611 p.
- FIERRO, I. M.; SILVA, A. C. B.; LOPES, C. D.; MOURA, R. S. BARJA-FIDALGO, C. Studies on the anti-allergic activity of *Mikania glomerata*. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 66, p. 19-24, July 1999.
- GOTTLIEB, O. R.; SALATINO, A. Função e evolução de óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 39, n. 8, p. 707-716, ago. 1987.
- GONÇALVES, L. A.; BARBOSA, L. C. A.; AZEVEDO, A. A.; CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar.

Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu - SP, v. 6, n. 1, p. 8-14, 2003.

GONÇALVES, L. A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth (Lamiaceae)**. 2001. 95 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

KING, R. M.; ROBINSON, H. The genera of Eupatorieae (Asteraceae). **Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden**, v. 9, p. 581, 1987.

LI, Y.; CRAKER, L. E.; POTTER, T. Effect of light on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 426, p. 419-426, 1996.

LIMBERGER, R. P.; ABOY, A. L.; BASSANI, V. L.; MORENO, P. R. H.; RITTER, M. R.; HENRIQUES, A. T. Essential oils from four *Mikania* species (Asteraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, p. 225-228, 2001.

LOSCHKE, D. C.; HADWIGER, L. A.; SCHRODER, L.; HAHLBROCK, K. Effects of light and of *Fusarium solani* on synthesis and activity of Phenylalanine Ammonia-Lyase in peas. **Plant Physiology**, Rockville, v. 68, n. 3, p. 680-685, 1981.

MING, L.C.; FIGUEIREDO, R. O.; MACHADO, S. R.; ANDRADE, R. M. C. Yield of essential oil of and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) Poaceae. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 426, p. 555-559, 1996.

OLIVEIRA, F.; SAITO, M. L.; GARCIA, L. O. Caracterização cromatográfica em camada delgada do extrato fluido de Guaco – *Mikania glomerata* Sprengel. **LECTA**, Bragança Paulista, v. 11, n. 1, p. 43-56, 1984.

OLIVEIRA, F.; RODRIGUES, R. F. O.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.; O óleo essencial de *Mikania glomerata* Sprengel - o Guaco oficial brasileiro. **LECTA**, Bragança Paulista, v. 17, n. 1, p. 21-26, 1999.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E. E.; SHPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; OVADIA, R.; GILLER, YU. E.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**,

Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May 2001.

PAUL, R. K.; JABBAR, A.; RRASHID, M. A. Anti-ulcer activity of *Mikania cordata*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 71, n. 6, p. 701-703, Dec. 2000.

PEREIRA, A. M. S.; CÂMARA, F. L. A.; CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M.; FRANÇA, S. C. Seasonal variation in coumarin content of *Mikania glomerata*. **Journal of Herbs, Spices e Medicinal Plants**, Binghamton, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2000.

REHDER, V. L. G.; SARTORATO, A.; MAGALHAES, P. M.; FIGUEIRA, G. M.; MONTARI JUNIOR, I.; LOURENÇO, C. Variação fenológica do teor de cumarina em *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex.Baker. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS, 3, 1998, Botucatu. **Resumos...** Botucatu, SP: UNESP, 1998. p. 26.

SAS INSTITUTE CORPORATION. Propriety software release 6.08. Cary, 1989.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E. E.; GAL, E.; GANELEVIN, R. Colomnets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 659, p. 143-151, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003. p. 467-495.

SUYENAGA, E. S.; RECHE, E.; FARIAS, F. M.; SCHAPAVAL, E. E. S.; CHAVES, C. G. M.; HENRIQUES, A. T. Antiinflammatory investigation of some species of *Mikania*. **Phytotherapy Research**, Sussex, v. 16, n. 6, p. 514-518, Sept. 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TANAKA, S.; YAMAURA, T.; SHIGEMOTO, R.; TABATA, M. Phytochrome mediated production of monoterpenes in thyme seedling. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 11, p. 2955-2957, Nov. 1989.

VILEGAS, J. H. Y.; DE MARCHI, E.; LANÇAS, F. M. Extration of low-polariry compounds (with emphasis on coumarin and kaurenoic acid) from *Mikania glomerata* (Guaco) leaves. **Phytochemical Analysis**, Sussex, v. 8, n. 5, p. 266-270, Sept. 1997.

YATSUDA, R.; MURATA, R. M.; DUARTE, S.; CURY, J. A.; KOO, H.; ROSALEN, P. L. Effects of *Mikania* genus plant on the growth and cell adherence of mutants streptococci. **Journal of Dental Research**, v. 81, p. 2117, Mar. 2002. Supplement.

YATSUDA, R.; MURATA, R. M.; DUARTE, S.; CURY, J. A.; KOO, H.; ROSALEN, P. L. Antimicrobial effect of *Mikania* against Streptococcus mutants. **XVIII Annual Meeting of SBPqO**. Águas de Lindóia, Brazil, p. 34, 2001.