

**CRESCIMENTO, CARACTERÍSTICAS  
ESTRUTURAIS E TEOR DE ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Artemisia vulgaris*,  
SUBMETIDAS A DIFERENTES ESPECTROS  
LUMINOSOS**

**MARIA ISABEL DE OLIVEIRA**

**2006**

**MARIA ISABEL DE OLIVEIRA**

**CRESCIMENTO, CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E TEOR  
DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Artemisia vulgaris*, SUBMETIDAS A  
DIFERENTES ESPECTROS LUMINOSOS**

Dissertação 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 “Mestre”.

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**

Oliveira, Maria Isabel de

Crescimento, características estruturais e teor de óleo essencial *Artemisia vulgaris*, submetidas diferentes espectros luminosos / Maria Isabel de Oliveira. -- Lavras: UFLA, 2006.

82 p. : il.

Orientador: Evaristo Mauro de Castro

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Artemisia vulgaris*. 2. Óleo essencial. 3. Losna. 4. Anatomia. 5. Crescimento. 6. Sombreamento I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD- 583.55  
-633.88355

**MARIA ISABEL DE OLIVEIRA**

**FISIOLOGIA, CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E TEOR DE ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Artemisia vulgaris*, SUBMETIDAS A DIFERENTES  
ESPECTROS LUMINOSOS**

Dissertação 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 "Mestre".

APROVADA em 07 de dezembro de 2006.

Prof. Dr. Magdi Ahmed Ibrahim Aloufa UFRN

Prof. Dr. Daniel Melo de Castro UFLA

Prof. Dr. Eduardo Alves UFLA

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2006

*A Jesus Cristo, meu mestre maior,*

## **OFEREÇO**

*Aos meus pais, Maria do Socorro e João Alvarenga de Oliveira, os primeiros responsáveis por meu amor pelos livros.*

*Aos meus filhos, Luis Eduardo, Ivan José e Maria Isadora de Oliveira, os incentivadores de meu amor pelos livros.*

*Ao professor Manuel Losada Gavilanes, pela dedicação, carinho e paciência.*

*Ao professor Evaristo Mauro de Castro pela impecável orientação.*

*Ao professor Cláudio H. C. Silva, pelo incentivo, apoio e dedicação.*

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida e pela vida de todas as pessoas com as quais convivo e que contribuem para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus pais, meus filhos e irmãos, por todo amor e apoio.

Ao grande amigo Cláudio H. C. Silva, pelo apoio, dedicação, paciência e transmissão de conhecimentos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Setor de Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização da pós-graduação.

Ao meu orientador, professor Evaristo Mauro de Castro, por toda atenção, carinho, amizade e confiança.

Aos membros da banca examinadora.

Ao professor Manuel Gavilanes, a quem serei eternamente grata pela atenção, apoio, incentivo, carinho e dedicação.

Ao professor José Donizete Alves e à professora Lisete Chamma, pelo acolhimento e confiança.

Aos professores Amauri Alves de Alvarenga, Renato Paiva, Luiz Edson Mota de Oliveira, Ângela Maria Soares, José Eduardo Brasil e Eduardo Alves, pelo carinho e por todos os conhecimentos transmitidos.

Ao Departamento de Agricultura, especialmente o Professor José Eduardo Brasil, o Técnico Evaldo de Souza Arantes e a estagiária Roseane Rodrigues de Souza pela valiosa contribuição, amizade e pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Departamento de Fitopatologia, especialmente o Professor Eduardo Alves, a Técnica Eloisa pela valiosa contribuição, amizade e pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários técnico-administrativos: Joel, Odorêncio, Lena, Evaristo, Ana Cristina, D'Artagnan e Izonel, pela contribuição, carinho e constante disponibilidade.

Aos colegas de curso, especialmente, Tales, Joeferson, Luis Antonio, Gustavo, Fernando, Fernanda Nery, Fernanda Soares, Patrícia Fabian, Janaina, Anderson, Graciele, Ivana, João Paulo, Girlene, Karine e Paula, pela amizade.

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

Aos meus queridos e exigentes alunos, que me levam à busca pelo aperfeiçoamento constante.

## **BIOGRAFIA**

MARIA ISABEL DE OLIVEIRA, filha de João Alvarenga de Oliveira e Maria do Socorro Oliveira, nasceu em 09 de março de 1964 em Ilícínea, MG. Concluiu Ensino Médio na Escola Estadual Dr. Emílio da Silveira em Alfenas, MG, em 1982. Estudou Psicologia na PUC – MG, por três anos. Coursou Técnico em Magistério na Escola Estadual Dr. Elias de Araújo Rocha, na cidade de Iporá, GO, concluindo em 1987. Iniciou sua carreira como professora de Ciências e Biologia no Ensino Fundamental e Médio, no Colégio Exato e outros, na cidade de Iporá em 1987. Coursou Licenciatura em Ciências Biológicas, na Universidade Estadual de Goiás, Iporá, GO concluindo em dezembro de 2001. Janeiro de 2003 retorna a Minas Gerais, para a cidade de Perdões, onde lecionou Biologia para o Ensino Médio na Escola Cenecista Dulce Oliveira (CENEC). Em 2004 mudou para Lavras, trabalhou no Instituto Presbiteriano Gammon, como professora de Biologia para o Ensino Médio. Em março de 2005, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia – Fisiologia Vegetal na UFLA, concluindo-o em dezembro de 2006.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO .....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	5
2.1 Aspectos gerais de <i>Artemisia vulgaris</i> L. ....	5
2.2 Influência da luz no cultivo de plantas .....	6
2.3 Variáveis utilizadas na análise de crescimento em relação à luz .....	8
2.4 Telas coloridas .....	10
2.5 Influência da luz nas características anatômicas das espécies .....	13
2.6 Influência da luz na síntese e acúmulo de óleos essenciais .....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	19
3.1 Considerações gerais.....	19
3.1.1 Condições climatológicas durante a condução dos experimentos .....	22
3.2 Análise de crescimento .....	23
3.2.1 Altura das plantas.....	23
3.2.2 Diâmetro do caule .....	23
3.2.3 Massa seca do caule, das folhas, das flores e da raiz .....	24
3.2.4 Área foliar .....	24
3.3 Características anatômicas .....	24
3.3.1 Microscopia de luz (ML) .....	24
3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	25
3.3.3 Microscopia de transmissão (MET).....	25
3.4 Teor de clorofila.....	27
3.5 Teor de carotenóides .....	27
3.6 Extração de óleo essencial .....	28
3.7 Análise estatística .....	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30

4.1 Análise de crescimento .....	30
4.2 Biomassa seca .....	32
4.3 Microscopia de luz (ML) .....	35
4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	40
4.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET) .....	48
4.6 Teores de clorofila .....	56
4.7 Teores de carotenóides.....	58
5 CONCLUSÕES .....	61
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

## RESUMO

OLIVEIRA, Maria Isabel de. Crescimento, características estruturais e teor de óleo essencial de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes espectros luminosos. 2006. 75 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>.

A espécie *Artemisia vulgaris* L. é uma herbácea aromática perene, rizomatosa. É uma planta ereta e pouco ramificada, pertencente à família Asteraceae (Compositae), sinonímia botânica *Artemisia verlotorum* Lamotte. É considerada importante produtora de óleo essencial, bastante utilizada na medicina popular. O estudo teve como objetivo avaliar aspectos fisiológicos, características estruturais foliares e teor de óleo essencial de *A. vulgaris* submetidas a diferentes espectros luminosos: pleno sol e sob telas coloridas (50%) preta, azul e vermelha. Os resultados indicam que a pleno sol ocorre maior acúmulo de óleo essencial, menor crescimento em altura, maior relação de biomassa seca raiz/parte aérea, menor conteúdo de clorofila e maior de carotenóides, maior espessura do limbo foliar e maior densidade de tricomas. Sob tela azul, houve maior área foliar. As plantas cultivadas sob tela preta apresentaram maior número de cloroplastídeos no parênquima paliçádico e maior número de grãos de amido por cloroplastídeo nos parênquimas paliçádico e esponjoso. Sob sombreamento, as plantas mantidas sob tela vermelha apresentaram maior teor de óleo essencial.

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA (Orientador) – UFLA.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Maria Isabel de. Growth, structural characteristics and content of essential oil of *Artemisia vulgaris* submitted to different light spectra.. 2006. 79 p. Dissertation (Master in Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil\*.

The species *Artemisia vulgaris* L; is an aromatic perennial rhizome-like herbaceous plant. It is a little branched erect plant belonging to the family Asteracea (Compositae), botanic synonymy *Artemisia verlotorum* Lamotte. It is regarded as an important producer of essential oil very utilized in folk medicine. The study was designed to evaluate physiological aspects, leaf structural characteristics and content of essential oil of *A. vulgaris* submitted to different light spectra: full sunshine and under colored screens (50%) black, blue and red. The results point out that in the full sunshine occur greater accumulation of essential oil, less growth in height, greater ratio of dry biomass root/shoot, smaller content of chlorophyll and greater of caroteneoids, greater thickness of the leaf blade and greater density of trichomes. Under the blue screen, there was a larger leaf area. The plants cultivated under black screen showed higher number of chloroplastides in the palisade parenchyma, greater number of starch grains per chloroplastide in the palisade and spongy parenchymas. Under shading, the plant maintained under red screen presented greater content of essential oil.

## 1 INTRODUÇÃO

A prática de buscar na natureza recursos para melhorar as próprias condições da vida, aumentando as chances de sobrevivência e perpetuação da espécie, é exercida pelo homem desde os tempos antigos.

A medicina popular no Brasil é fundamentada nas informações dos índios, europeus e negros, os principais formadores da etnia brasileira, e na influência de outras populações de imigrantes. Por meio do avanço tecnológico

---

\* Guidance Committee. Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA (Adviser) – UFLA.

alcançado nos últimos dois séculos, foi possível realizar a identificação de centenas de compostos químicos vegetais e a elucidação científica dos efeitos terapêuticos de plantas consagradas pelo conhecimento popular (Blanco, 1998).

Com a demanda pela utilização de plantas medicinais na cura ou prevenção de doenças, o cultivo e/ou extrativismo destas torna-se uma alternativa cada vez mais importante na agricultura nacional (Correa Junior et al., 1994).

O extrativismo, porém, não é a forma mais adequada, visto que a exploração de plantas de uso medicinal da flora nativa por extração direta nos ecossistemas tropicais tem levado a reduções drásticas das populações naturais dessas espécies. Entretanto, Reis et al. (2003) afirmam que é relativamente pequeno o conhecimento acumulado sobre o cultivo ou manejo de populações naturais de plantas medicinais da flora nativa. Como o processo de extrativismo das espécies de interesse ainda perdura, somente o acesso a informações que permitam a estruturação de tecnologias pertinentes aos ambientes e diversidades existentes pode mudar este quadro, tornando a domesticação e o cultivo destas espécies questões prioritárias quanto à preservação dos recursos naturais, e ainda apresentar opções na obtenção de matéria-prima de interesse farmacêutico.

A qualidade da matéria-prima utilizada com fototerápico afeta a eficácia e segurança dos medicamentos. As indústrias farmacêuticas investem na qualidade da matéria-prima, cultivando plantas medicinais de interesse em larga escala, o que permite a seleção de linhagens com teor de princípios ativos. O ter dos óleos essenciais acumulados em diferentes partes do vegetal está sob controle genético, podendo ser, porém, alterado frente à influência de fatores externos ao organismo como fertilidade do solo, umidade, intensidade de luz, temperatura, herbivoria e poluição atmosférica e do solo. Para maximizar a produção de um determinado princípio ativo é importante que se conheça o comportamento da espécie em diferentes condições ambientais.

A luz é um fator ambiental de fundamental importância para as plantas devido à sua ação direta ou indireta na regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal. As adaptações sofridas pelas plantas em seu aparato fotossintético em resposta às condições de luminosidade ambiental refletem em seu crescimento global (Engel & Poggiani, 1991).

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

Diante da necessidade de aprofundar conhecimentos sobre plantas medicinais da flora brasileira, e sabendo da importante influência da luz sobre o crescimento, desenvolvimento e produção de princípios ativos, selecionou-se para estudo a espécie *Artemisia vulgaris* L. (Asteraceae = Compositae), conhecida também pela sinonímia botânica *Artemisia verlotorum* Lamotte e

pop  
da  
anal  
aste  
inte  
tôni  
uso  
(Lo



Neste contexto, os principais objetivos deste trabalho foram avaliar aspectos fisiológicos, características estruturais e teor de óleo essencial de *A. vulgaris* submetidas a diferentes espectros luminosos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aspectos gerais de *Artemisia vulgaris* L.

*Artemisia vulgaris* L., pertencente à família Asteraceae (Compositae), é também conhecida pelo nome científico *Artemisia verlotorum* Lamotte. Popularmente é chamada de absinto, artemísia-comum, artemísia-verdadeira, artemija, artemige, artimígio, erva-de-são-joão, isopo-santo e losna. É denominada "gewöhnlicher beifuss" na Alemanha, "hierba de San Juan" na Espanha, "armoise" na França, "mugwort" na Inglaterra e "assenzio selvatico" na Itália (Lorenzi & Matos, 2002),

Trata-se de uma espécie herbácea perene, rizomatosa, com forte aroma. É uma planta ereta e pouco ramificada, de 30 a 60 cm de altura. Provavelmente é originária da Europa ou da Ásia e naturalizada em quase todo o mundo. Suas folhas são simples e profundamente lobadas, membranáceas, com face inferior de cor prateada, de 6 a 16 cm de comprimento. Suas flores são esbranquiçadas, discretas, reunidas em capítulos pequenos dispostos em panículas terminais.

É apresentada como planta invasora por Lorenzi (2000). É uma planta infestante, tanto de campos cultivados quanto de jardins, pastagens e margens de estradas. Sua importância como invasora vem aumentando no Sul e Sudeste do Brasil graças a sua eficiente capacidade reprodutiva. Talvez seja a planta detentora de maior vigor reprodutivo por meios vegetativos.

Esta planta invasora é de difícil controle, pois além das sementes, propaga-se também vegetativamente pelo caule subterrâneo (rizoma). Após o corte da parte aérea, ocorre uma rápida rebrota dos rizomas que repovoam a região. Outro problema encontrado é que em regiões onde se utiliza agricultura mecanizada, ocorre disseminação desses rizomas que são movimentados pelos implementos agrícolas. Além disso, a losna é tolerante à maioria dos herbicidas utilizados, principalmente nas culturas de milho e soja, e a utilização contínua de

um mesmo produto nestas áreas causa alterações na flora nativa no sentido de uma seleção em favor das espécies resistentes (Brighenti et al., 1993).

Todas as partes desta planta têm sido amplamente usadas há séculos na medicina popular em todo o mundo, sendo reconhecida por seus efeitos analgésicos, antiespasmódicos e anticonvulsivos, sendo empregada também para dispepsia, astenia, epilepsia, dores reumáticas, febres, anemias e para expelir parasitos intestinais. É indicada também para cólicas intestinais, como digestivo e como tônico da circulação sanguínea, distúrbios e cólicas menstruais. Esta pode ser ingerida como chá feito de folhas ou da flor, dependendo do distúrbio. O modo de usar e a dosagem irão variar de um distúrbio para outro. É recomendada também para uso externo em aplicação localizada contra escaras, feridas, piolhos e lêndeas (Lorenzi & Matos, 2002)

Na sua composição química destacam-se o óleo essencial rico em terpenos (cineol e tuiona), flavonóides, taninos, saponinas, resinas, artemisina e princípios amargos. A artemisina vem sendo testada com resultados promissores contra malária (Lorenzi & Matos, 2002).

## **2.2 Influência da luz no cultivo de plantas**

A luz é fundamental para a regulação de alguns processos do desenvolvimento vegetal e as plantas possuem capacidade de se adaptar a diferentes condições de luminosidade. Por meio de seus fotorreceptores, podem captar as variações na quantidade e qualidade de luz, adaptando seu desenvolvimento às condições a que estão expostas.

Para a caracterização da luz, três fatores são importantes: a qualidade espectral, a quantidade e a direção. No espectro eletromagnético ocorre uma faixa visível ao olho humano, de 400 a 700 nanômetros (nm), em que é encontrada a RFA (radiação fotossinteticamente ativa). A quantidade de luz que chega a um sensor plano de área, conhecida por unidade de tempo, é a

irradiância, sendo a RFA a medição dessa, e a medição da luz, em todas as direções, é a taxa de fluência (Oren-Shamir et al., 2001).

A fotossíntese ocorre principalmente nas folhas, das quais a região mais ativa é o mesófilo foliar devido à presença de um maior número de cloroplastos (Ferri, 1985), sendo seu aspecto mais interessante o extenso sistema de membranas internas, conhecidas como tilacóides, nas quais se encontra a clorofila, pigmentos acessórios e proteínas.

A fotomorgênese refere-se aos efeitos da luz no desenvolvimento da planta e no seu metabolismo celular. A luz vermelha exerce influência mais forte e seus efeitos podem ser revertidos pela luz vermelha-distante. Nos fenômenos fotomorfogênicos, o fitocromo é o pigmento envolvido, ocorrendo em duas formas: a que absorve a luz vermelha (Pr), 650 a 680 nm., e a que absorve a luz vermelha-distante (Pfr), 710 a 740 nm. O fitocromo é sintetizado no escuro e a indução pela luz vermelha leva-o ao estado Pfr. A absorção pela luz vermelha-distante faz o processo reverso, convertendo Pfr em Pr, sendo o Pfr a forma ativa que dá origem à resposta fisiológica. O equilíbrio entre as duas formas é denominado estado foto-estacionário (Taiz & Zeiger, 2004). O fitocromo detecta a relação entre a luz vermelha e a vermelha-distante, que codifica em sinal celular e excitação causada pela luz, alterando o metabolismo celular e influenciando no desenvolvimento das plantas (Ballaré et al., 1997). A luz vermelha é importante para o desenvolvimento da estrutura fotossintética das plantas e pode aumentar o acúmulo de amido em várias espécies de plantas por inibição da translocação de assimilados para fora das folhas (Saebo et al., 1996).

Um outro tipo de resposta seria correspondente à luz azul, que permite às plantas alterarem o seu crescimento, o desenvolvimento e a aclimatização às condições ambientais. As respostas específicas podem ser distinguidas por um espectro de ação característico de "três dedos" na região de 400 a 500 nm, sendo que a fisiologia das respostas é bastante variável e inclui fototropismo,

movimentos estomáticos, inibição do alongamento celular, ativação de genes, biossíntese de pigmentos, acompanhamento da luz do sol pelas folhas e movimento dos cloroplastos dentro das células (Taiz & Zeiger, 2004).

O estudo da luminosidade é fundamental para a avaliação do potencial de crescimento de um vegetal, pois a disponibilidade de luz constitui um dos fatores críticos para o seu desenvolvimento (Galejo et al., 2001).

Em geral, os diferentes graus de luminosidade causam mudanças morfológicas e fisiológicas na planta, e o grau de adaptação é determinado por características genéticas da planta em interação com o seu meio ambiente (Moraes Neto et al., 2000).

Geralmente, há grande diversidade de respostas das plantas à luminosidade, principalmente quanto ao desenvolvimento vegetativo da parte aérea e à sobrevivência das mudas. Dessa forma, a eficiência do crescimento da planta pode ser relacionada à habilidade de adaptação das plântulas a espectros luminosos do ambiente (Scalon & Alvarenga, 1993).

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).

Em relação às mudanças no processo de regeneração e crescimento de mudas, concluiu-se que as diferenças de luz quanto à intensidade possuem, nas condições naturais, efeito mais significativo no crescimento das plantas do que a sua qualidade, principalmente no que se refere ao acúmulo de matéria seca (Amo, 1985),

### **2.3 Variáveis utilizadas na análise de crescimento em relação à luz**

Para avaliar o crescimento das plantas em relação à luz utilizam-se diversas variáveis, mais freqüentemente a altura e o diâmetro do caule. O maior

diâmetro de caule é uma característica desejável em mudas porque garante maior sustentação da parte aérea. A produção de massa seca, a área foliar e as relações entre a biomassa da parte aérea e radicular são variáveis também utilizadas na avaliação do crescimento das mudas quanto à luz (Farias et al., 1997).

Estudos evidenciam um desenvolvimento mais favorável em condições de alta luminosidade para espécies heliófitas com maior produção de matéria seca, como em *Sesbania sesban* L.-Fabaceae/Papilionoideae, enquanto outros encontraram maior acúmulo de matéria seca em baixa luminosidade, como em *Muntingia calabura* L.-Elaeocarpaceae (Gajego et al., 2001).

Freqüentemente, as análises do crescimento em plantas são utilizadas para predizer o grau de tolerância das diferentes espécies ao sombreamento. Acredita-se que as espécies tolerantes apresentem um crescimento mais lento em relação às não-tolerantes devido às suas taxas metabólicas serem mais baixas (Grime, 1977). O rápido crescimento em altura, quando sombreadas, é um mecanismo de adaptação das plantas competitivas (Grime, 1977) ou nômades (Tinoco & Vasques-Yanes, 1985) como forma de escape ao déficit de luz, já que estas não são capazes de tolerar baixa intensidade luminosa por meio do reajuste de suas taxas metabólicas.

A área foliar também é uma característica muito utilizada na avaliação dos efeitos do sombreamento sob a planta. Em geral, o incremento da área foliar com o sombreamento é uma das maneiras de a planta aumentar a superfície fotossintética, assegurando um aproveitamento mais eficiente das baixas intensidades luminosas e, conseqüentemente, compensando as baixas taxas de fotossíntese por unidade da área foliar característica de folhas de sombra (Jones & Mcleod, 1940).

As respostas apresentadas pelas plantas à variação na disponibilidade de luz costumam envolver, ainda, alterações nas características das folhas relacionadas a 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 à sua síntese (Whatley, 1982).

A clorofila esta sendo constantemente sintetizada e destruída (fotooxidação) em presença de luz; porém, sob intensidades luminosas mais elevadas ocorre maior degradação e o equilíbrio é estabelecido a uma concentração mais baixa. Portanto, folhas de sombra possuem concentração maior de clorofila do que folhas de sol (Kramer & Kozlowski, 1979). Todavia, se o conteúdo for expresso por unidade de área foliar a concentração é menor nas folhas de sombra.

#### **2.4 Telas coloridas**

Podem-se estabelecer diferentes condições de cultivo a fim de aumentar a concentração de princípios ativos medicinais. Para tanto, é necessário considerar as condições ambientais favoráveis de cada espécie, uma vez que esses fatores proporcionam respostas diferenciadas, especialmente quanto aos óleos essenciais.

As telas coloridas representam um novo conceito agrotecnológico, que objetiva combinar proteção física 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 telas exercem uma 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 reflectâncias da luz (Oren-Shamir et al., 2001).

Existe uma grande variedade de telas coloridas, que são definidas pela porcentagem de sombra que produzem para as plantas cultivadas (Grinberger et al., 2000). Podem-se obter vantagens específicas com a utilização de telas

diferenciadas, que podem modificar a composição da luz que passa para as plantas, melhorando o rendimento dos cultivos (Oren-Shamir et al., 2001)

As telas coloridas constituem um elemento novo no cultivo protegido, provocando reações fisiológicas específicas, que são convertidas em características comerciais. Telas distintas podem ser usadas por produtores em plantas com estádios de desenvolvimento diferentes visando obter plantas com características morfológicas e fisiológicas desejadas, melhorando a eficiência do cultivo (Shahak et al., 2004)

Em *Pittosporum variegatum*, as telas azul e vermelha com sombreamento de 50% exerceram maior influência no seu cultivo, sendo que a tela vermelha proporcionou a formação de galhos mais longos em comparação com a tela negra, e a tela azul proporcionou um desenvolvimento mais lento, com produção de plantas com galhos mais curtos. Nas plantas cultivadas sob a tela azul, ocorreu menor número de ramificações. Em relação ao tamanho da folhas, a tela vermelha proporcionou resultados melhores, comparados à negra. No cultivo comercial, encontrou-se uma desvantagem das telas negra e azul, ocorrendo a produção de uma baixa quantidade de galhos com valor comercial, com rendimento de pelo menos 50% menor (Oren-Shamir et al., 2001).

Na cultura da alface, mantida em sombreamento de 30% e tela vermelha, os resultados foram superiores ao controle (cultivo sem sombreamento). Em relação ao rendimento agrícola, indica-se um sombreamento ótimo ao redor de 30 a 40%. Entretanto, as experiências dos agricultores indicam um nível de sombreamento ótimo ao redor de 20 a 30 % (Grinberg et al., 2000).

Em *Aralia* sp, *Monstera deliciosa* Liebm, *Aspidistra elatior* Blume e *Asparagus* sp. L. verificou-se aceleração do crescimento vegetativo sob a tela vermelha e retardo sob a tela azul. Para *Aralia* sp, com sombreamento de 60%, o rendimento foi inferior ao longo de todo cultivo comparado com outras telas, as

quais não influenciaram no tamanho das folhas, mas reduziram consideravelmente a haste foliar (Shahak et al., 2004).

Com *Monstera deliciosa*, a tela vermelha não influenciou o comprimento dos ramos, sendo que se obteve um incremento superior no número de ramos formados (Shahak et al., 2004).

Em experimentos com *Zantedeschia* sp Spreng (Araceae) sob tela vermelha 40%, tanto o número de folhas como o número de flores foram superiores, indicando que a tela vermelha parece ter mais efeito na produtividade e altura de hastes (Leite, 2004).

Outro ponto importante é que a qualidade da radiação dada pela razão ente vermelho e vermelho distante, bem como a razão entre azul e vermelho, são totalmente diferentes, bem como a difusão de luz (Oren-Shamir, 2001). As diferenças encontradas nas plantas sob tela vermelha podem ser melhor explicadas pelas diferenças na qualidade da luz transmitida pelas telas do que pela intensidade, uma vez que as diferenças estatísticas da transmissão de radiação encontradas entre as telas vermelha e preta foram relativamente pequenas.

Observando o gráfico de transmissão de tela colorida verifica-se que há uma grande quantidade de radiação no infravermelho que pode ser responsável por esta ligeira modificação da temperatura do ar. A diferença na temperatura do ar sob tela azul, embora estatisticamente significativa, parece não ter afetado os resultados do experimento devido ao fato de que temperaturas maiores no cultivo de plantas produzem sintomas justamente contrários aos que foram verificados em plantas estressadas e precoces, para as quais a mínima noturna é suficiente para promover indução floral (Oren-Shamir, 2001).

Oren-Shamir (2001), em medições realizadas freqüentemente, relatou que a tela azul transmitiu um pico largo em torno de 470 a 700 nm e a tela vermelha teve absorção principal entre 400 e 590 nm.

## **2.5 Influência da luz nas características anatômicas das espécies**

Para se adaptarem a regimes diferentes de luz, algumas plantas têm plasticidade no seu desenvolvimento, crescendo como plantas de sol ou plantas de sombra (Taiz & Zeiger, 2004). As características morfológicas e anatômicas foliares são contrastantes até para folhas de uma mesma planta, expostas a regimes de luz. A anatomia foliar pode ser avaliada em relação a intensidade, qualidade e quantidade de luz (Castro, 2002).

As adaptações das folhas ao sombreamento incluem modificações morfológicas e anatômicas, tais como aumento da área, diminuição da espessura e redução do número de células do mesofilo por unidade de área, dentre outras características (Barreiro et al., 1992)

A anatomia foliar afeta a eficiência da absorção de luz de duas maneiras. A luz é absorvida por pigmentos, principalmente clorofila a e b, nos cloroplastos. Outros pigmentos, incluindo pigmentos acessórios, carotenóides e flavonóides, também modificam a sua absorção. A anatomia foliar é importante na maneira como influencia a distribuição dos cloroplastos nas folhas (Lee et al., 2000).

As folhas de plantas cultivadas ao sol são mais espessas, com maior desenvolvimento da cutícula, e têm as células paliçádicas mais longas (Taiz & Zeiger, 2004). Folhas de *Nauclea* L. (Rubiaceae), crescendo em alta densidade de fluxo de fótons, tiveram um mesofilo paliçádico bem desenvolvido, constituído de duas camadas de células, e quando cresceram sob baixa densidade de fluxo de fótons, tiveram apenas uma camada de células (Ridloch et al., 1991).

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. Esta

plasticidade adaptativa é típica das espécies que apresentam amplo potencial de aclimatação (Hanba et al., 2002; Schluter et al., 2003).

Conforme 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.

Existe uma estreita relação entre morfologia e anatomia foliar com o ambiente em que a espécie se desenvolve. Portanto, no estudo de anatomia foliar deve-se levar em consideração a idade do órgão, sua posição no ramo e sua situação em relação aos fatores de luz e suprimento hídrico (Ashton & Berlyn, 1992; Hanba et al., 2002; Ivanova & P'Yankov, 2002; Piel et al., 2002).

Estudos comparativos de estruturas de folhas, caules e raízes têm mostrado diferentes respostas anatômicas em relação a estes órgãos, a despeito de alterações nos níveis de luminosidade no ambiente. Por esta razão, folhas de plantas crescidas em ambientes ensolarados são menores, mais espessas e têm mais massa por unidade de área em relação às cultivadas à sombra. Este fato se deve, provavelmente, a uma taxa fotossintética mais elevada a pleno sol, em comparação com as plantas crescidas à sombra (Bjorkman, 1981; Boardman, 1977). O aumento na espessura da folha, especialmente pela alongação ou adição de células do parênquima paliçádico, tem sido ligado a uma redução na resistência do mesófilo ao dióxido de carbono (Nobel, 1977) e correlacionado ao aumento de fatores potencialmente limitantes do processo fotossintético (Bjorkman, 1981).

Os estômatos são estruturas fundamentais para a vida das plantas, pois em condições normais, é por meio deles que ocorre toda a troca gasosa. Portanto, qualquer variação no número e/ou tamanho destes pode acarretar maior ou menor eficiência da planta quanto à taxa fotossintética. O número de

estômatos e células epidérmicas por unidade de área é base para a determinação do índice estomático, que é utilizado para efeito de correlação com processos fisiológicos.

Segundo Bolhar-Nordenkampf & Draxler (1993), as mudanças que ocorrem na luminosidade de um ambiente proporcionam adaptações aos cloroplastídeos, modificando propriedades das membranas dos tilacóides, como o arranjo dos cloroplastos nas células. Os cloroplastídeos tendem a se movimentar em direção anticlinal às paredes das células sob luz intensa para reduzir a absorção pelas folhas. No parênquima paliçádico, os cloroplastídeos podem estar aglomerados, formando uma haste próxima às paredes periclinais, ou podem estar aderidos longitudinalmente às paredes anticlinais, funcionando como um tubo para passagem da luz para o parênquima esponjoso situado logo abaixo do parênquima paliçádico, isso em uma folha dorsiventral. Os cloroplastídeos no parênquima esponjoso podem, também, se orientar de acordo com a quantidade e qualidade de luz penetrada. A movimentação dos cloroplastídeos pode aumentar o coeficiente de absorção de luz pelas folhas em até 20% e, assim, contribuir para a adaptação em curto prazo, após mudanças de condições de baixa para alta irradiância ou vice-versa.

## **2.6 Influência da luz na síntese e acúmulo de óleos essenciais**

Os óleos essenciais são substâncias produzidas pelo metabolismo secundário em pequenas quantidades em relação a substâncias produzidas pelo metabolismo primário, sendo responsáveis por funções nem sempre bem definidas. Dentre estes se destacam as substâncias voláteis, que se difundem com facilidade a partir da evaporação, constituindo verdadeiro elo entre a fonte produtora e o meio ambiente. Apesar de terem sido considerados por muito tempo mero desvio de funções vitais da planta, os óleos essenciais são fundamentais para a inter-relação dos organismos, promovendo, assim, o

equilíbrio entre os reinos vegetal e animal (Craveiro et al., 1981). Também denominados óleos etéreos ou essências, são misturas complexas e apresentam as características de volatilidade e baixo peso molecular, normalmente sendo líquidos de aparência oleosa, odoríferos, solúveis em solventes orgânicos e com solubilidade limitada em água (Simões et al., 1999)

Seus constituintes variam de hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, óxidos, peróxidos, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e cumarinas até compostos de enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações; normalmente um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssima quantidade (traços) (Simões et al., 1999).

Os óleos essenciais estão associados a várias funções necessárias à sobrevivência do vegetal em seu ecossistema. Exercem papel fundamental na defesa contra microorganismos e predadores e também na atração de insetos e outros agentes polinizadores. Em resposta adaptativa a condições de estresse, os vegetais produzem maior quantidade de óleo essencial (Lopes et al., 2001; Ming, 1998; Morvillo & Gil, 2004; Santos, 2002; Siani et al., 2000)

Na dinâmica de crescimento e desenvolvimento em seu ciclo fenológico, as plantas medicinais e aromáticas podem ter alterações bioquímicas e fisiológicas capazes de afetar a elaboração dos princípios ativos, tanto no aspecto quantitativo quanto qualitativo (Taiz & Zeiger, 2004)

Estas alterações ocorrem devido a vários fatores intrínsecos e extrínsecos. Alguns autores classificam esses fatores como genótipo (indivíduo); fisiológico (estádios de desenvolvimento, ritmo estacional, rotas metabólicas alternativas, hormônios e estágio reprodutivo); fator técnico de cultivo (como adubações, densidades de plantio, consorciamento, etc.) e fator ecológico (pressões de variações no clima, solos e competidores, entre outros) (Dey &

Harborne, 1997; Hook et al., 1999; Martins et al., 1994; Morvillo & Gil, 2004; Simões et al., 1999).

Além dos aspectos citados acima, a operação de colheita deve ser realizada no momento de maior produção do princípio ativo e isto é variável de acordo com os aspectos como órgãos da planta, idade, estágio de desenvolvimento vegetativo, época do ano e horário de colheita (Martins et al., 1994).

Diante do exposto, é imprescindível que se envidem esforços em pesquisas, visando descobrir a influência de cada fator na adaptação do cultivo às exigências da planta, genotipicamente selecionada, para a otimização da produção dos óleos. O produtor necessita de material vegetal com rendimento em área e teor de óleo essencial altos, utilizando informações e técnicas precisas (Ming, 1998; Sacramento, 2001). No entanto, poucos fatos pertinentes têm efetivamente sido desvendados até o momento, demandando esforço multidisciplinar dos pesquisadores (Leal et al.; 2003).

De acordo com Corrêa Júnior et al. (1994), fatores de ordem genética ou endógena são os que dependem da carga genética de cada planta, diferente para cada espécie, e fazem com que cada espécie tenha uma composição química diferente.

Fatores fisiológicos interferem intensamente na produção de óleo essencial. Variáveis como idade da planta e ciclo fenológico são determinantes na quantidade e qualidade dos compostos químicos vegetais, uma vez que enzimas, hormônios e outros compostos são produzidos, degradados e ou reelaborados para expressar respostas fisiológicas que são características de cada uma destas fases (Ming, 1996).

O ambiente influencia diretamente no metabolismo das plantas. Toda a fisiologia vegetal é modificada quando genótipos idênticos são cultivados em

condições ambientais diferentes, o que os geneticistas denominam de norma de reação de genótipo (Griffithset al., 1996).

Estas modificações ocorrem nas formas anatômicas e morfológicas, fisiológicas e bioquímicas. Nos anos recentes tem aumentado a atenção ao comportamento bioquímico das plantas (que pode envolver o metabolismo primeiro e secundário e promover uma ou mais alterações bioquímicas das células das plantas) e sua adaptação aos diferentes ambientes (Dey & Harborne, 1977).

Fatores externos como temperatura, pluviosidade, vento, solo, latitude, altitude e época estacional interferem de forma significativa na elaboração desses compostos (Pinto & Bertolucci, 2002).

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

Em *Thymus vulgaris* L. observou-se que a radiação estimulou a formação de tricomas, o que é pré-requisito para o acúmulo de óleo essencial nessa espécie (Yamaura et al, 1989). Observou-se, ainda, aumento na produção de óleo essencial em *Mentha piperita* em condições de alta intensidade luminosa (Clark & Menary, 1980). O teor de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. foi maior quando esta espécie foi cultivada sob maior nível de radiação (Ming, 1998).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Considerações gerais

O trabalho foi conduzido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, no período de dezembro de 2005 a julho de 2006, em Lavras, município situado na região Sul do Estado de Minas Gerais, a 918,87m de altitude, latitude 21° 14' S e longitude 45° 00'.

As plantas foram cultivadas em viveiros, nos quais foram submetidas a 50% de sombreamento, com uso de telas coloridas e um tratamento pleno sol como testemunha.

A análise sobre teor de óleo essencial foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentos e a área foliar foi medida no Setor de Hidráulica, ambos no Departamento de Agricultura. A análise da anatomia vegetal foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Fitopatologia, no Setor de Botânica Estrutural, e no Laboratório de Nutrição e Metabolismo do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da UFLA.

#### Obtenção do material vegetal

Mudas de *A. vulgaris* foram produzidas a partir de planta matriz de 6 meses de idade, utilizando micro-estacas apicais de 5cm de comprimento e 2mm de diâmetro, e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 72 células, contendo substrato comercial Plantmax®, no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras.

As micro-estacas foram postas para enraizar em 12 de dezembro de 2005 e transplantadas para os vasos em 26 de dezembro de 2005, quando já se encontravam com enraizamento satisfatório. Foram coletadas em 27 de março de 2006.

A classificação da espécie em estudo foi efetuada pelo professor Manuel Losada Gavilanes, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Uma exsicata da espécie utilizada nos experimentos encontra-se depositada no Herbário ESAL (Herbário do Departamento de Biologia da UFLA), registrada com o número 20926.

As mudas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 3L. O substrato utilizado foi uma mistura de terra de subsolo, areia e esterco bovino decomposto na proporção de 2:1:1.

Os tratamentos utilizados constituíram-se de diferentes telas quanto ao espectro de luz transmitido, porém com o mesmo índice de sombreamento, de 50 %. Estavam completamente isolados entre si, com distância mínima de 3m, evitando interferência direta da luz de um tratamento no outro. Os tratamentos foram:

- Tratamento 1: a pleno sol (100% de luz).
- Tratamento 2: tela negra convencional de 50% de sombreamento, cuja curva de transmissão pode ser observada na Figura 1.

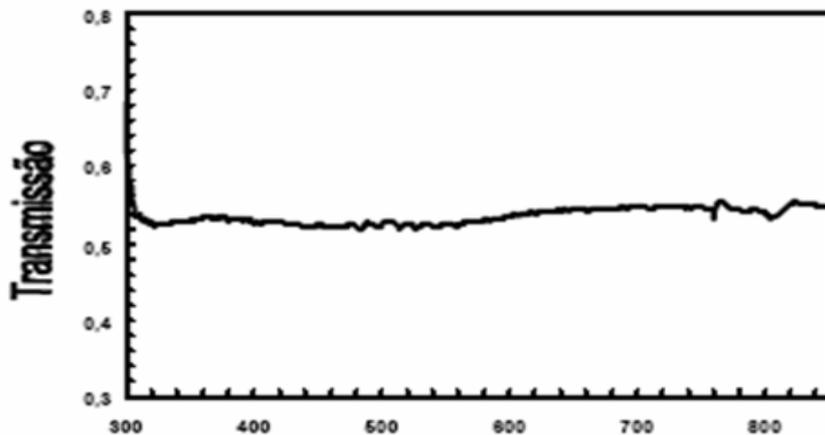


FIGURA 1. Curva de transmissão da tela negra convencional (Oren-Shamir et al., 2001).

Tratamento 3: tela de transmissão de ondas na faixa do vermelho próximo e vermelho distante com aproximadamente 50% de sombreamento, ChromatiNet Vermelha® 50, cuja curva de transmissão pode ser observada na Figura 2.

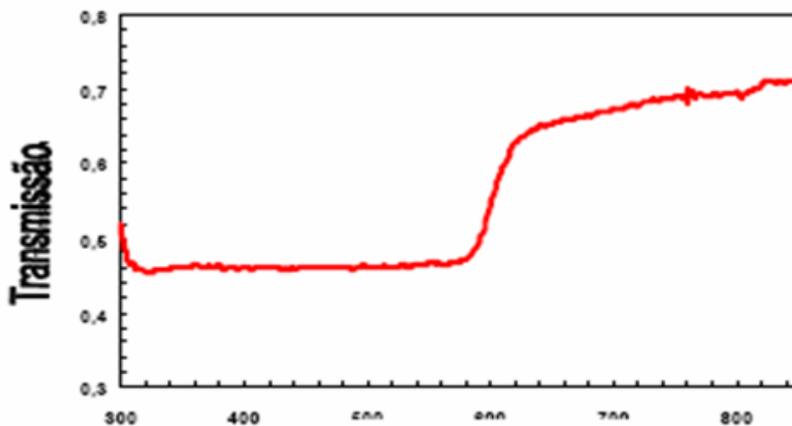


FIGURA 2. Curva de transmissão da tela vermelha convencional (Oren-Shamir et al., 2001).

Tratamento 4: tela de transmissão de luz na faixa do azul e vermelho distante com aproximadamente 50% de sombreamento, ChromatiNet Azul® 50, cuja curva de transmissão pode ser observada na Figura 3.

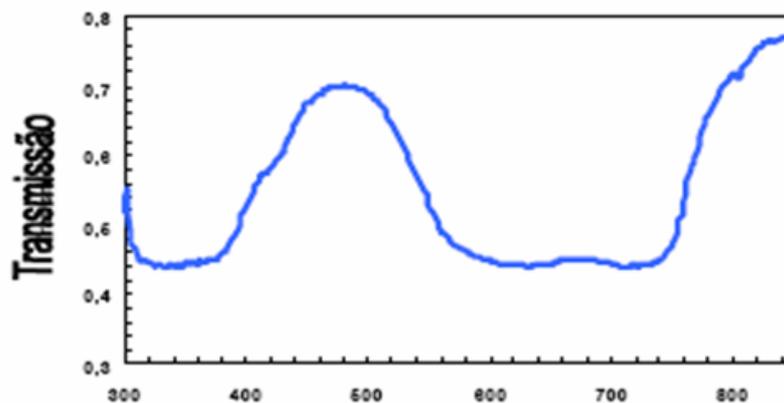


FIGURA 3. Curva de transmissão da tela azul convencional (Oren-Shamir et al., 2001).

Todas as telas foram confeccionadas em polietileno de alta densidade monoorientado.

### 3.1.1 Condições climatológicas durante a condução dos experimentos

Os dados climatológicos da cidade de Lavras, MG foram fornecidos pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e estão expostos na Tabela 1.

TABELA 1. Dados climatológicos da cidade de Lavras, MG, no período de dezembro de 2005 a março de 2006. **Tx**: Média diária da temperatura máxima (°C); **Tn**: Média diária da temperatura mínima (°C); **Tm**: Média diária de Tx e Tn diárias (°C); **Pt**: Precipitação total diária (mm); **UR**: Umidade relativa do ar média diária (%); **Ins**: Insolação média mensal (horas). UFLA, Lavras, MG, 2006.

<b>Mês</b>	<b>Tx (°C)</b>	<b>Tn (°C)</b>	<b>Tm (°C)</b>	<b>Pt (mm)</b>	<b>UR (%)</b>	<b>Ins (horas)</b>
Dez/05	27.4	16.9	21.2	8.3	77.5	5.0
Jan/06	29.4	18.3	23.0	4.8	70.5	7.3
Fev/06	30.4	18.5	23.3	10.2	76.5	6.3
Mar/06	29.3	17.9	22.4	9.1	79.2	6.9
Média	29.1	17.9	22.5	8.1	75.9	6.4

### 3.2 Análise de crescimento

As características fitotécnicas foram analisadas em viveiro no Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentos do Departamento de Agricultura e no Departamento de Hidráulica da Universidade Federal de Lavras. Foram analisadas as seguintes características fitotécnicas:

#### 3.2.1 Altura das plantas

A variável altura foi medida do colo ao ápice da planta utilizando-se uma trena.

#### 3.2.2 Diâmetro do caule

O diâmetro do caule foi avaliado a 1 cm do solo e medido com paquímetro.

### **3.2.3 Massa seca do caule, das folhas, das flores e da raiz**

As plantas foram separadas em folhas, flores, caule e raízes. Todo o material foi acondicionado em sacos de papel kraft devidamente identificados e colocado em estufa com circulação forçada de ar a  $40 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , até o peso constante. 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 08 plantas de cada tratamento.

### **3.2.4 Área foliar**

Para verificação da área foliar foi utilizado um aparelho Licor Li 3100 no Departamento de Agricultura, no Setor de Hidráulica da Universidade Federal de Lavras.

## **3.3 Características anatômicas**

### **3.3.1 Microscopia de luz (ML)**

Foram coletadas 12 folhas do 5º nó abaixo do ápice de plantas tomadas ao acaso em cada tratamento. As folhas foram fixadas em álcool 70% para a confecção de lâminas para os estudos anatômicos. 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, sendo, em seguida, lavados em água destilada, neutralizados em solução acética a 1% e montados em glicerina a 50%. A coloração com safranina e azul de astra foi realizada de acordo com os métodos descritos por Bukatsch (1972).

A espessura foliar foi avaliada por meio de seções transversais, na região mediana de 8 folhas provenientes de plantas distintas de cada tratamento. As medições foram realizadas pelo microscópio KEN-A-VISION 2100, equipado com uma ocular micrométrica. As medidas foram realizadas em 4 campos por folha, perfazendo um total de 32 medições para cada tecido foliar,

por tratamento. Foram avaliadas as espessuras das epidermes adaxial e abaxial, dos parênquimas paliçádico e lacunoso e do limbo.

### **3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Para a observação da superfície foliar quanto à presença de tricomas glandulares e não-glandulares, coletaram-se 8 folhas de cada tratamento, localizadas no 5º nó abaixo do ápice da planta, das quais foram retirados fragmentos da região mediana, com aproximadamente 0,5 mm<sup>2</sup>, os quais foram fixados em solução Karnovisk's por um período de 24 horas; em seguida, os fragmentos de folhas foram lavadas em tampão cacodilato a 0,05 M por três vezes de 10 minutos cada e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1%, durante 4 horas. Para a observação das estruturas internas da folha, foram realizados cortes transversais em alguns fragmentos em nitrogênio líquido. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100% três vezes por 10 minutos), submetidas ao ponto crítico de dessecação de CO<sub>2</sub> em equipamento BAL-TEC, CPD-03; fixadas no suporte metálico com cola de prata e recobertas com ouro metálico (10nm) em aparelho BAL-TEC, SCD-050. O material foliar preparado foi observado e eletromicrografado em microscópio eletrônico de varredura LEO-EVO 40, XVP. Para a determinação da densidade de tricomas foram escolhidos, aleatoriamente, 12 campos de observações com mesma área (0,678 mm<sup>2</sup>) nas epidermes adaxial e abaxial.

### **3.3.3 Microscopia de transmissão (MET)**

O preparo das amostras e as observações em MET foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da UFLA. Fragmentos de 0,5 cm<sup>2</sup> foram retirados de 5 folhas de cada tratamento, localizadas no 5º nó abaixo do ápice, e fixados, em seguida, numa solução composta de glutaraldeído (2,5%) e

paraformaldeído (2,5%), em tampão cacodilato, pH 7,0, 0,05M + CaCl<sub>2</sub> 0,001M por aproximadamente quatro horas, em temperatura ambiente.

Posteriormente, esses fragmentos foram lavados em tampão cacodilato 0,05M (três vezes de 10 minutos) e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0,05 M por 4 horas. Em seguida, iniciou-se a desidratação em gradiente de acetona (25, 50, 75, 90 por 10 minutos e três vezes por 10 minutos em 100%). Logo após, o material foi incluído em gradiente crescente de acetona e resina Spurr 30% por 8 horas, a 70% por 12 horas e duas vezes a 100%, em intervalos de 24 horas, sendo os tecidos emblocados em resina pura e colocados em estufa a 70°C por 48 horas para a polimerização. Os blocos obtidos foram desbastados com lâminas de aço para a retirada da resina excedente.

Foram realizados os cortes em seções semifinas (1µm) e ultrafinas (<100nm), com o auxílio de um ultramicrotomo Reichert-Jung, utilizando navalha de diamante. Os cortes semifinos foram coletados com anel de ouro, colocados em lâminas de vidro, coloridos com azul de toluidina (1g azul de toluidina, 1g borato de sódio e 100mL de água purificados por meio de filtro Millipore 0,2µm) e montados permanentemente em meio Permut. Os cortes ultrafinos foram coletados em grades de ouro (*golden slot grids*) e 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 ultraestruturais dos cloroplastos foram realizadas em 10 células da primeira camada do parênquima paliádico, em todos os tratamentos estudados.

### 3.4 Teor de clorofila

A determinação dos teores de clorofila foi realizada a partir de 8 folhas simples completamente expandidas, retiradas do 5º nó abaixo do ápice das plantas por tratamento, tomadas ao acaso. 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). As folhas foram cortadas em pequenos fragmentos destituídos da nervura principal, os quais, em seguida, foram pesados e macerados em cadinho de porcelana com pistilo em aproximadamente 15mL de acetona 80% (v/v). Logo após, realizou-se filtragem em lã de vidro, completando-se o volume para 25mL com acetona 80%. Imediatamente após este procedimento, procedeu-se à leitura da absorbância a 663 nm e 645 nm em um espectrofotômetro v/uv Beckman modelo 640 B. Todo o procedimento foi realizado em ambiente sem luminosidade para evitar a degradação de clorofilas. Os cálculos de mg de clorofila por grama de massa fresca de tecido foliar foram realizados utilizando-se as equações descritas a seguir:

$$\text{Clorofila a} = [12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}] \times V/1000 W$$

$$\text{Clorofila b} = [22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}] \times V/1000 W$$

Em que:

A = absorbância dos extratos nos comprimentos de onda indicados.

V = volume final do extrato clorofiliano-cetônico. W= massa fresca em gramas do material vegetal utilizado.

### 3.5 Teor de carotenóides

A determinação dos teores de carotenóides foi realizada em oito folhas maduras e completamente expandidas por tratamento, localizadas no 5º internó

abaixo do ápice da planta, as quais foram imediatamente acondicionadas em papel alumínio e mantidas sob refrigeração. A extração e a quantificação dos carotenóides foram realizadas segundo a metodologia descrita por Duke & Kenyon (1986). Os teores de carotenóides foram quantificados utilizando-se os coeficientes de absorvidade molar de Sandmann & Borger (1983).

Para a extração, foram utilizados 500mg de folhas picadas por tratamentos, que foram macerados em cadinho com pistilo, em 10mL de hidróxido de potássio solubilizado em metanol (6% p/v). Em seguida, os extratos foram centrifugados a 5.000g por 50 minutos, sob temperatura ambiente, 10°C e 20°C, com ressuspensão, sendo o sobrenadante depositado em tubo de ensaio. Para a extração dos pigmentos, o extrato foi particionado com 3mL de éter de petróleo, com agitação vigorosa. Coletou-se a epifase com pipeta automática e o extrato pôde ser particionado repetidamente por mais duas vezes, procedendo-se à leitura espectrofométrica a 445nm.

### **3.6 Extração de óleo essencial**

A extração de óleo essencial de *A. vulgaris* foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura (DAG) da UFLA.

As folhas das plantas, após serem coletadas, foram acondicionadas em sacos de papel kraft devidamente identificadas e colocadas em estufa com circulação forçada de ar a  $40 \pm 3^\circ\text{C}$ , até peso constante.

Para a extração do óleo foi utilizado o método de hidrodestilação em aparelho Clevenger, por Wasick. Pesaram-se 20g do material vegetal, as quais foram colocadas em balão volumétrico de 1000 mL e a elas acrescentado um volume de 750 mL de água destilada.

Após o período de extração, que foi de 2 horas após o início da fervura, o hidrolato obtido foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com 3 porções de 25mL de diclorometano (cada porção descansou

por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com três gramas de sulfato de magnésio anidro. O sal foi removido por filtração simples e o solvente, evaporado à temperatura ambiente em capela de exaustão de gases até alcançar peso constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial nas folhas de *A. vulgaris* pela fórmula:

$$T\% = \text{Massa do óleo(g)} / 20\text{g} \times 100.$$

### **3.7 Análise estatística**

Os ensaios foram conduzidos seguindo o delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos representados por quatro espectros luminosos (pleno sol e telas coloridas: preta, 50%; azul, 50%; e vermelha, 50%). O material experimental foi plantas de *A. vulgaris*.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o programa estatístico SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999). As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e os dados referentes à análise de microscopia de transmissão foram transformados usando  $(X)^{0,5}$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise de crescimento

Verifica-se que o padrão de crescimento das plantas variou em função dos ambientes a que estas foram submetidas.

Na Tabela 2, é possível observar que plantas expostas a pleno sol têm altura inferior aos tratamentos cobertos com telas preta, azul e vermelha, os quais não apresentaram diferença entre si.

TABELA 2. Valores médios de altura, diâmetro do caule, área foliar específica (AFE), razão área foliar (RAF) e razão de peso foliar de *A. vulgaris* submetidas a diferentes espectros luminosos. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Espectros luminosos	Altura (cm)	Diâmetro do caule (cm)	A FE (cm <sup>2</sup> /g)	RAF (cm <sup>2</sup> /g)	RPF
Pleno Sol	35.68 b	0,56 a	169.76 a	23.66 b	0.15 b
Preto	123.50 a	0,55 a	136.12 ab	34.30 ab	0.26 a
Azul	122.12 a	0,57 a	89.82 b	22.28 b	0.25 a
Vermelho	125.87 a	0,65 a	117.00 ab	36.67 a	0.31 a

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O efeito das telas coloridas sobre o crescimento das plantas já havia sido observado para outras espécies. Em *Pittosporum variegatum*, as telas vermelha e azul com 50% de sombreamento exercem maior efeito, sendo que a tela vermelha proporcionou maior crescimento dos galhos e a azul, desenvolvimento mais lento da planta (Oren-Shamir et al., 2001)

Em *Phalaenopsis* sp, plantas sob telas vermelhas tiveram os melhores resultados para os parâmetros de crescimento da haste quando comparadas às condições de sombreamento de telas azul e preta (Leite, 2004).

A radiação vermelha pode promover um alongamento de parte aérea, como já foi constatado em diversos estudos com alteração na qualidade de luz

(Debergh, 1997; Appलगren, 1991; Marks & Simpson, 1999), mas esse alongamento não é uma característica geral. Schuenger et al. (1997) afirmam que a influência da qualidade espectral sobre o crescimento e o desenvolvimento de plantas está fortemente associada à espécie vegetal.

As plantas de *A. vulgaris* não tiveram diferença nos resultados de diâmetro do caule sob os diferentes espectros luminosos a que foram submetidas (Tabela 2).

Segundo Naves (1993), o crescimento em diâmetro guarda uma relação mais estreita com a fotossíntese líquida do que com o crescimento em altura e depende do acúmulo de carboidratos e de um balanço favorável entre a fotossíntese líquida e a respiração.

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 sombreamento azul (Tabela 2) indicando que as folhas de *A. vulgaris* tornam-se mais espessas quando as folhas são mantidas em local sombreado. Larcher (2004), afirma que plantas que desenvolvem folhas mais espessas apresentam um metabolismo mais ativo, e como consequência, essas folhas apresentam uma maior produção de matéria seca com um maior conteúdo energético. Os valores de RAF das plantas sombreadas sob tela vermelha foram inferiores aos das plantas cultivadas sob as telas telas e a pleno sol. De acordo com Peterson (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 interceptora de luz por excelência.

As plantas crescidas em ambiente de pleno sol apresentaram menores valores de RPF que as plantas cultivadas sob telas. Isto informa que *A. vulgaris* sob pleno sol aloca menos fotoassimilados para as folhas em relação aos demais tratamentos.

As adaptações das folhas ao sombreamento incluem modificações morfológicas e anatômicas, tais como aumento da área, diminuição da espessura e redução do número de células do mesofilo por unidade de área, entre outras características (Barreiro et al., 1992)

A luz azul influencia a biossíntese de clorofila e outros pigmentos por meio da regulação da expressão de determinados genes (Tsunoyama et al 2002). Isto pode explicar o maior vigor foliar encontrado para todas as variedades tratadas com tela azul. Embora não se tenha feito uma avaliação formal, visualmente as folhas das plantas tratadas com luz azul apresentavam-se mais verdes e brilhantes.

#### **4.2 Biomassa seca**

As plantas cultivadas a pleno sol e sob tela azul acumularam maior quantidade de biomassa seca do que aquelas sob telas preta e vermelha (Tabela 3), mostrando que a produção de biomassa total em plantas de *A. vulgaris* foi influenciada tanto pela qualidade espectral da luz solar como pela intensidade. Larcher (2004) afirma que plantas de sol estão mais aptas a utilizar maiores intensidades de radiação graças à elevada capacidade de transporte do sistema eletrônico e, desta forma, conseguem maiores ganhos fotossintéticos.

O teste de médias revelou maior acúmulo de biomassa seca de folhas em plantas submetidas à tela azul. O fato de as biomassas secas de folhas e total serem maiores em plantas cultivadas sob tela azul permite inferir que a maior eficiência fotossintética das plantas de *A. vulgaris* ocorre neste ambiente.

As plantas de *A. vulgaris* que apresentaram maior acúmulo de biomassa no caule foram aquelas cultivadas a pleno sol (Tabela 3).

A maior biomassa seca da raiz ocorreu em plantas cultivadas a pleno sol e sob malha azul (Tabela 3). As plantas a pleno sol alocam maiores percentuais de biomassa para o sistema radicular, indicando que ocorre efeito estimulante na

translocação para a raiz. Estes resultados foram observados por vários autores, entre outros, Dias Filho (1997).

TABELA 3: Biomassa seca (g) de raiz, caules, folhas, total e relação raiz/parte aérea de plantas jovens de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de luminosidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Condição de sombreamento	Biomassa seca (g)				Razão raiz/parte aérea
	Folhas	Caules	Raízes	Total	
Pleno Sol	7.50 b	14.43 a	18.70 a	22.93 a	0.85 a
Preto	6.69 b	8.33 b	8.39 c	15.30 b	0.55 b
Azul	12.40 a	9.91 b	15.50 a	21.11 a	0.69 b
Vermelho	7.90 b	8.11 b	11.60 b	13.01 b	0.72 b

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Entre as plantas cultivadas sob telas preta, vermelha e azul, as que tiveram maior acúmulo de biomassa seca total foram aquelas submetidas à tela azul (Tabela 3). Segundo Taiz & Zeiger (2004), as plantas utilizam a luz azul como fonte de energia e como um sinal que fornece informações sobre o ambiente. Tais informações são traduzidas em processos metabólicos que permitem às plantas alterar seu crescimento e desenvolvimento. As respostas à luz azul podem incluir biossíntese de pigmentos e regulação de genes envolvidos em vários processos morfogenéticos importantes, como, por exemplo, os que codificam a enzima chalcona sintase, que catalisa a biossíntese da pequena subunidade de rubisco, e as proteínas que ligam as clorofilas a e b. Portanto, pode-se inferir que ocorreu maior eficiência do processo fotossintético nas plantas nesse ambiente.

A maior razão raiz/parte aérea ocorreu em plantas submetidas a pleno sol, indicando uma alocação preferencial de matéria seca para o sistema radicular. Muitos autores descrevem, em diferentes espécies, que plantas

cultivadas a pleno sol alocam maiores percentuais de biomassa para o sistema radicular. A menor distribuição de biomassa para raízes sob baixas condições de radiação resulta em respostas que aumentam o acúmulo de carbono, como um aumento na área foliar, ou que reflitam uma estratégia buscando luminosidade, como aumento na altura (Almeida et al., 2001; Dias-Filho, 1997; 2000; Walters et al., 1993).

Em estudo com plantas de *Campomanesia rufa* observou-se maior acúmulo de biomassa seca em raízes de plantas submetidas à alta intensidade luminosa e, conseqüentemente, maior relação raiz/parte aérea em comparação com as plantas submetidas a sombreamentos (Rezende, 2004).

Alguns autores sugerem que a menor distribuição de biomassa seca para raiz em plantas submetidas a menor intensidade luminosa provavelmente revela uma resposta adaptativa que possibilita maior ganho de carbono, como aumento na razão de área foliar, ou que reflita numa estratégia buscando luminosidade, como aumento na altura (Walters et al., 1993).

Vários trabalhos têm demonstrado maior acúmulo de biomassa seca no sistema radicular de plantas cultivadas no tratamento a pleno sol (Groninger et al., 1996; Ke & Weryer, 1999). Almeida (2001), estudando aspectos fisiológicos do crescimento inicial de plantas jovens de *Cryptocarya aschersoniana*, constatou que as relações raiz/parte aérea de biomassa seca foram maiores nas condições de 50% de sombreamento. Segundo Claussen (1996), plantas da mesma espécie com sistemas radiculares mais desenvolvidos em determinada condição têm mais habilidade de aclimatação do que aqueles com sistemas radiculares reduzidos, pois podem absorver maior quantidade de água e nutrientes, estratégia que garante maior capacidade para suportar maiores taxas de fotossíntese e transpiração que ocorrem nestes ambientes.

Porém, para Chapin et al. (1987), um padrão de alocação de biomassa que prioriza os órgãos aéreos sob condições de sombreamento permite maior

captação de luz pelas plantas, otimizando o processo fotossintético em ambiente onde a luz limita a fotossíntese.

#### **4.3 Microscopia de luz (ML)**

A folha de *A. vulgaris* foi caracterizada como dorsiventral e hipoestomática e a epiderme da face adaxial e abaxial e o parênquima paliçádico são constituídos por 1 camada de células; já o parênquima esponjoso apresentou variações de 3 a 4 camadas; e há uma espessa camada de cutícula na superfície adaxial (Figura 4)

As folhas das plantas cultivadas a pleno sol e sob tela preta tiveram maiores espessuras do limbo e parênquima esponjoso do que aquelas cultivadas sob telas azul e vermelha. As folhas de plantas cultivadas a pleno sol tiveram maior espessura do parênquima paliçádico (Tabela 4). De acordo com Taiz & Zeiger (2004), as folhas de plantas cultivadas ao sol são mais espessas, com maior desenvolvimento da cutícula, e têm as células paliçádicas mais longas. Folhas de *Nauclea* (Rubiaceae), crescendo em alta densidade de fluxo de fótons, apresentaram um mesofilo paliçádico muito bem desenvolvido, constituído de duas camadas de células, e quando cresceram sob baixa densidade de fluxo de fótons, apresentaram apenas uma camada de células (Riddoch et al., 1991).

Em plantas cultivadas sob telas azul e vermelha observou-se menor espessura de epiderme adaxial, parênquimas paliçádico e esponjoso e limbo foliar. Outros autores (Almeida, 2001; Bolhar, 1993) observaram, em experimentos com alterações espectrais, que na maioria dos casos verifica-se redução da espessura foliar sob radiação vermelha. A anatomia da folha é altamente especializada para a absorção de luz. A epiderme é transparente à luz visível e suas células são, com frequência, convexas. As células epidérmicas convexas podem atuar como lentes à luz, de modo que a quantidade de fótons

que atinge alguns dos cloroplastos pode ser muitas vezes maior do que a quantidade na luz do ambiente (Volgelmann et al., 1996).

Quanto à epiderme abaxial observou-se maior espessura em folhas de plantas cultivadas sob telas azul e vermelha, as quais não tiveram diferença significativa entre si. Nos tratamentos pleno sol e tela preta, a epiderme abaxial apresentou espessura menor em relação aos tratamentos azul e vermelho, não apresentando diferença significativa entre si. Por manter contato direto com o ambiente, a epiderme está sujeita às modificações estruturais em decorrência de vários fatores ambientais. Foi observado maior alongamento das células do parênquima paliçádico e maiores espaços intercelulares no parênquima esponjoso em folhas a pleno sol (Tabela 4). Nas plantas crescidas em altas intensidades luminosas, o mesofilo é, geralmente, mais desenvolvido, com as células do parênquima paliçádico mais altas e justapostas. Zanela (2001) observou que plantas de *Hymenaea courbbaril*, *Maclucra tinctoria* e *Acácia mangium*, quando cultivadas a pleno sol, apresentam folhas mais espessas devido ao aumento do mesofilo e dos parênquimas paliçádico e esponjoso. Segundo Lee et al. (2000), células paliçádicas mais alongadas constituem um padrão clássico de resposta e de adaptação das plantas à alta intensidade luminosa, o que pode ser constatado em plantas de *A.vulgaris* (Figura 4).

Segundo Larcher (2004), nos espaços intercelulares a radiação é totalmente refletida. Dessa forma, pode-se inferir que a maior quantidade de espaços presentes em plantas cultivadas sob forte intensidade luminosa constitui um mecanismo adaptativo para a reflexão do excesso de radiação. Existe uma estreita relação entre os espaços intercelulares e as espessuras de parede celular na condutância interna de CO<sub>2</sub>, 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.

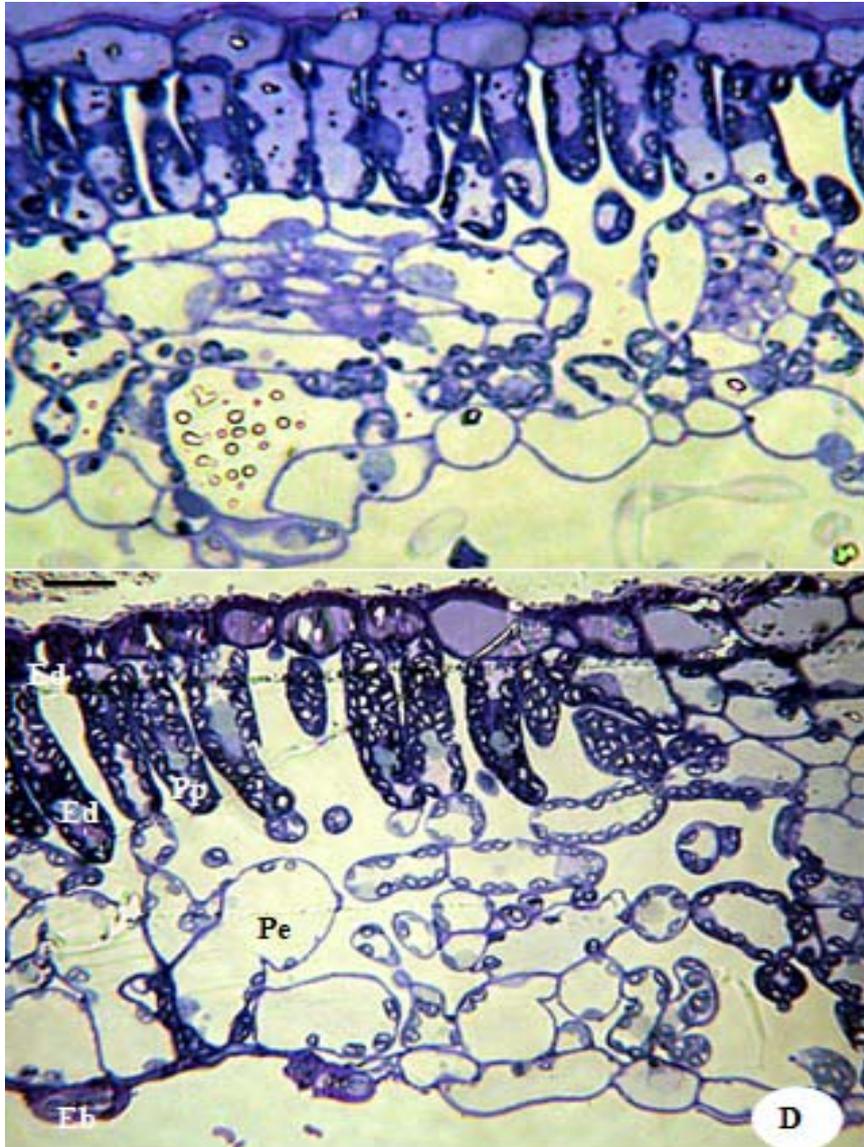
TABELA 4: Espessura média da epiderme das faces adaxial e abaxial, parênquima paliçádico e esponjoso e limbo foliar de *A. vulgaris* submetidas a diferentes espectros luminosos. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Condição de sombreamento	Espessura (µm)				
	Ep Ad	Ep. Ab	Par. Pal	Par Esp	Limbo foliar
<b>Pleno Sol</b>	18.15 ab	13.98 b	62.70 a	58.71 a	153.54 a
<b>Preto</b>	17.76 ab	13.71 b	57.16 b	60.15 a	148.77 a
<b>Azul</b>	17.37 b	15.54 a	54.57 b	51.27 b	138.75 b
<b>Vermelho</b>	18.52 a	16.41 a	54.15 b	47.25 b	136.32 b

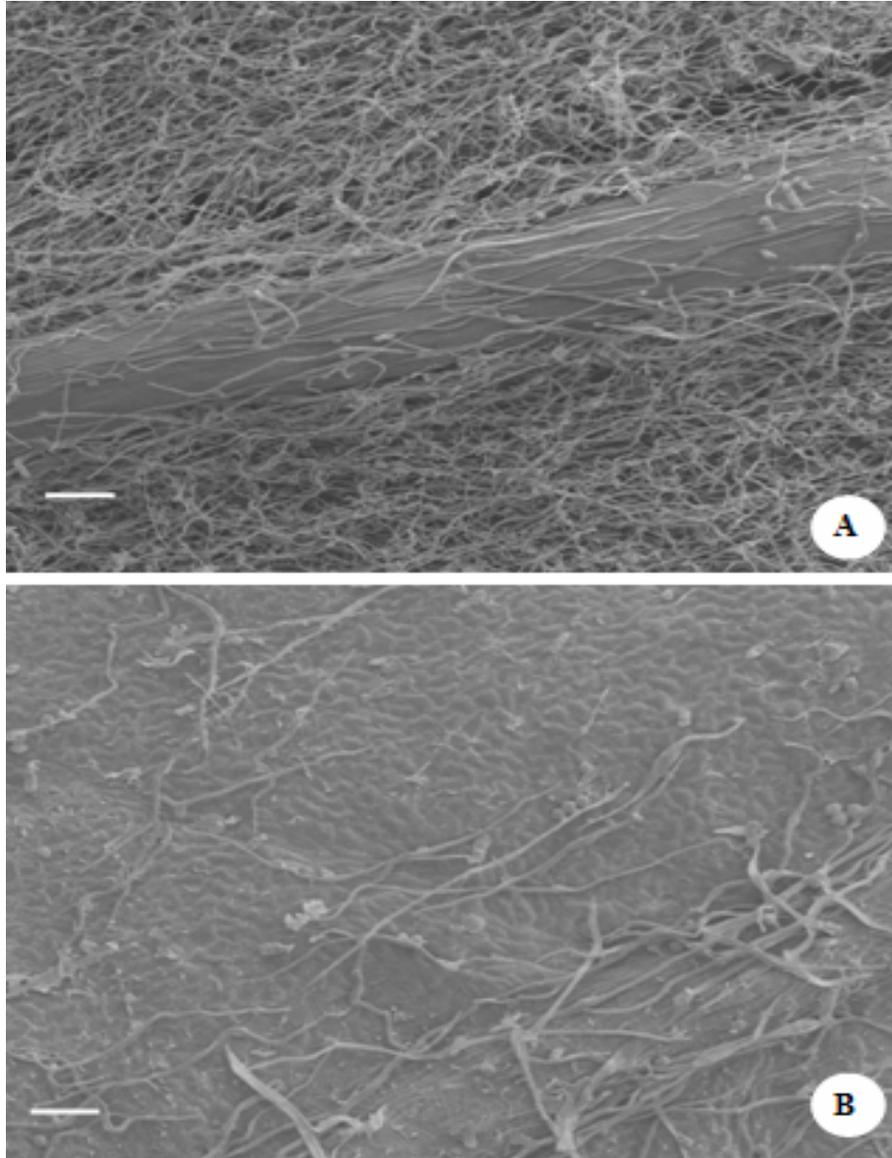
\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A luz influencia a anatomia foliar tanto nos primeiros estádios de desenvolvimento quanto no estágio adulto, pois a folha é um órgão bastante plástico e sua estrutura interna adapta-se às condições de luz do ambiente. A influência da luz sobre a anatomia foliar pode ser avaliada de acordo com a intensidade, a qualidade e a quantidade da luz.

Folhas de plantas crescidas em ambientes ensolarados são menores, mais espessas e têm mais massa por unidade de área em relação às cultivadas à sombra. Este fato se deve, provavelmente, à taxa fotossintética mais elevada a pleno sol, em comparação com as plantas crescidas à sombra (Boardman, 1977; Bjorkman, 1981). O aumento na espessura da folha, especialmente pela alongação ou adição de células do parênquima paliçádico, tem sido ligado a uma redução na resistência do mesofilo ao dióxido de carbono (Nobel, 1977) e correlacionado ao aumento de fatores potencialmente limitantes do processo fotossintético (como, por exemplo, Rubisco, transportadores eletrônicos, condutância estomática) (Bjorkman, 1981).



**FIGURA 4:** Eletromicrografias de seções transversais em cortes semifinos de lâminas foliares de *A. vulgaris*. Ed (Epiderme adaxial), Eb (Epiderme abaxial), Pp (Parênquima paliçádico) Pe (Parênquima esponjoso). A (pleno sol) B (tela preta). Barra corresponde a 100µm. UFLA, Lavras, MG, 2006



**FIGURA 5:** Eletromicrografias de seções transversais em cortes semifinos de lâminas foliares de *A. vulgaris*. Ed (Epiderme adaxial), Eb (Epiderme abaxial), Pp (Parênquima paliçádico) Pe (Parênquima esponjoso). A (pleno sol) B (tela preta). Barra corresponde a 100µm. UFLA, Lavras, MG, 2006

Goulet & Bellefleur (1986) afirmaram que os efeitos da luz (sol e sombra) influenciaram na plasticidade foliar, alterando a espessura, a área e outras características desse órgão vegetal. Algumas plantas têm plasticidade suficiente para se desenvolverem e adaptarem-se a uma amplitude de regimes de luz, crescendo como plantas de sol. Essas plantas de sol são mais espessas e têm células paliçádicas mais longas do que as de sombra. As células na superfície superior da folha, expostas ao fluxo fotônico mais alto, caracterizam folhas crescendo à plena luz do sol; as células na superfície inferior têm características encontradas em folhas de sombra. Segundo Björkman (1981), a capacidade de alterar a estrutura das folhas em resposta a diferentes níveis de luz é um atributo comum das espécies que apresentam amplo potencial da aclimação. Entretanto, em algumas não ocorre uma relação muito clara entre os níveis de radiação e a anatomia (Ashton & Berlyn, 1992).

Características anatômicas contrastantes também podem ser encontradas em folhas da mesma planta, expostas a regimes luminosos diferentes. Mesmo partes distintas de uma folha mostram adaptações ao seu microambiente luminoso (Terashima, 1992).

*A. vulgaris* tem plasticidade fenotípica, verificada pelos ajustes das características anatômicas de espessamento foliar em função dos espectros luminosos aos quais foram submetidas.

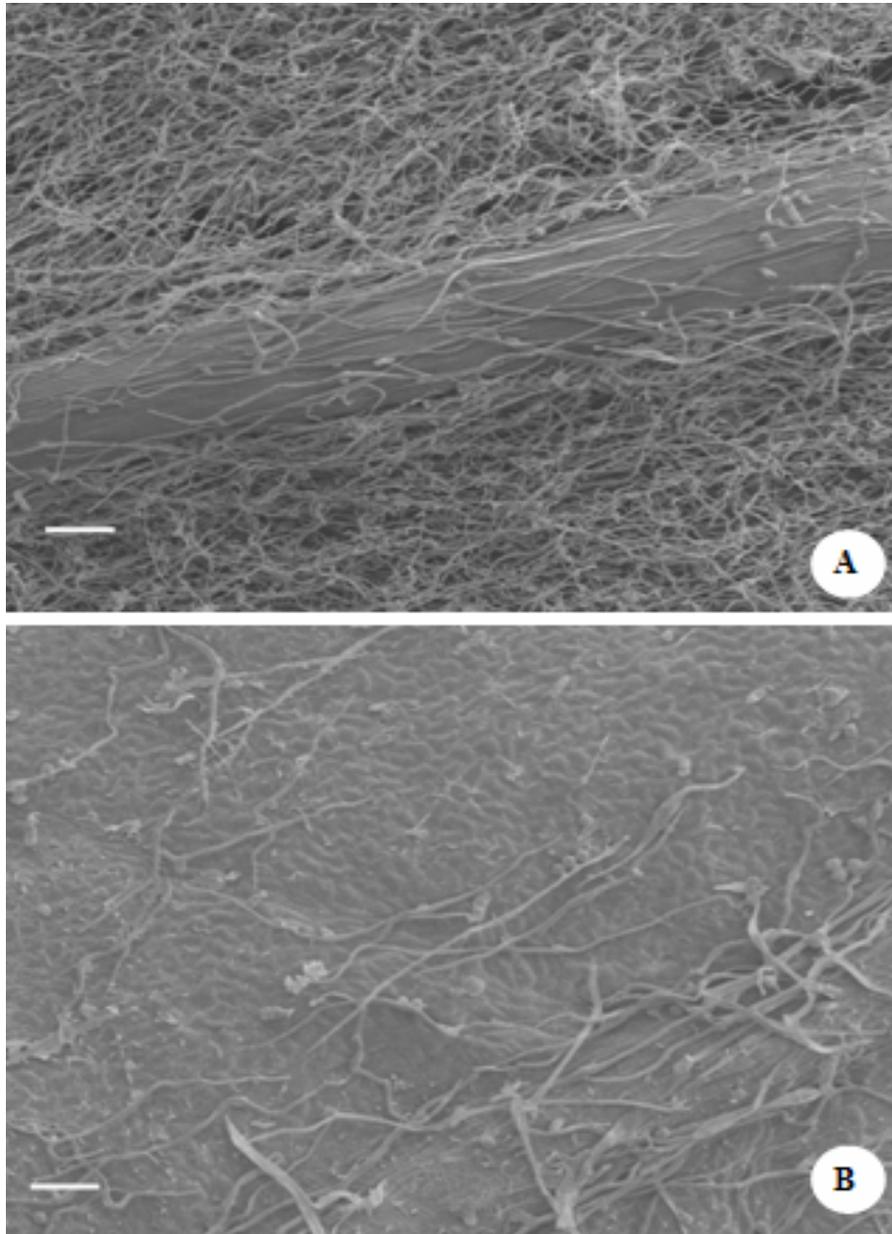
#### **4.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Pelas eletromicrografias tiradas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) da superfície de folhas de *A. vulgaris* foi possível verificar grande quantidade de tricomas, sendo estes de dois tipos: um do tipo bractiforme com ramificações e outro do tipo capitado. Observaram-se tricomas tanto na superfície abaxial como na superfície adaxial, em muito maior quantidade na superfície abaxial. A observação das eletromicrografias expostas nas figuras 3 e

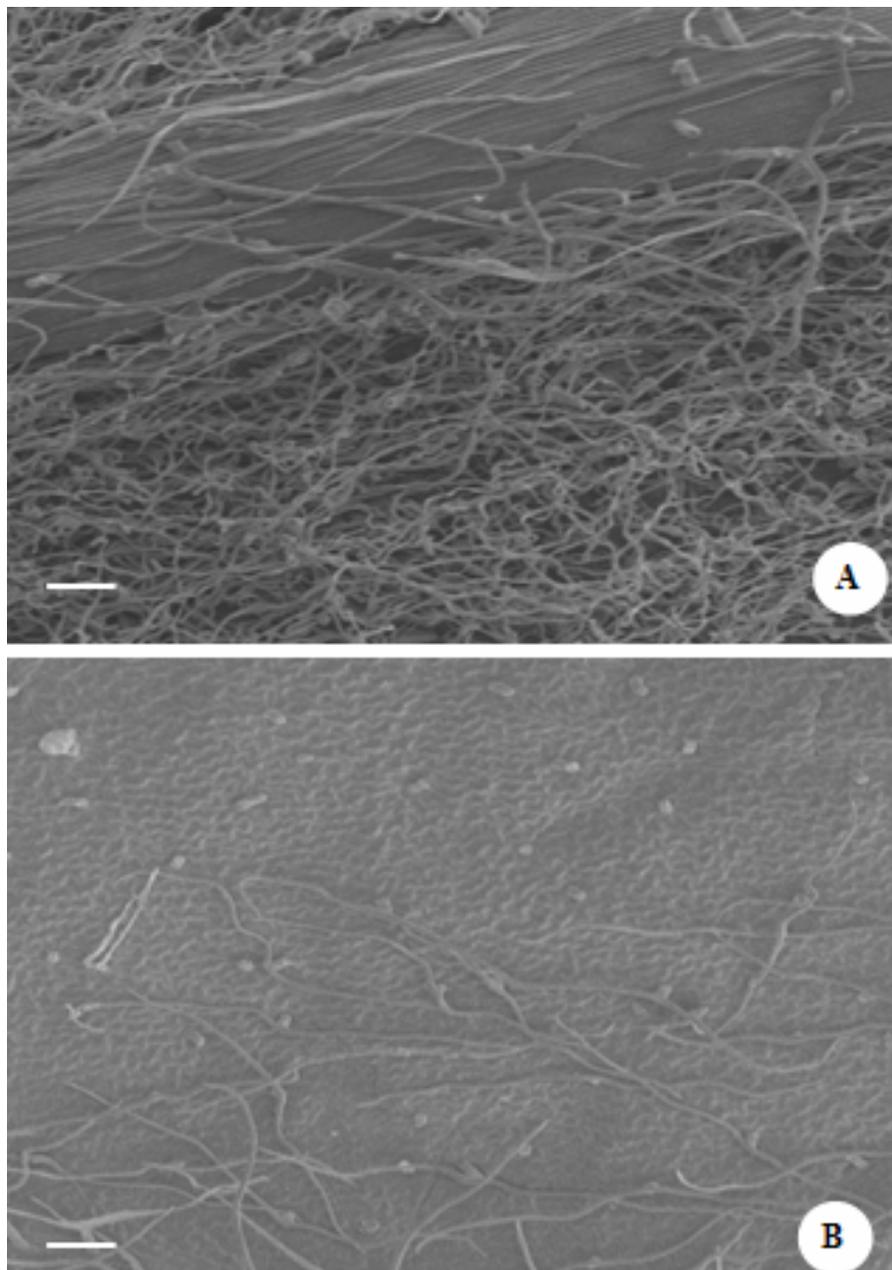
4 permite afirmar que as lâminas foliares de plantas cultivadas a pleno sol apresentam maiores quantidade de tricomas em relação às plantas cultivadas sob sombreamento das telas preta, azul e vermelha.

De acordo com Larcher (2004), a densa cobertura de tricomas sobre a superfície da folha ou a espessa parede celular no tecido epidérmico agem como filtros capazes de modificar a radiação direta em luz difusa, minimizando o efeito da radiação intensa.

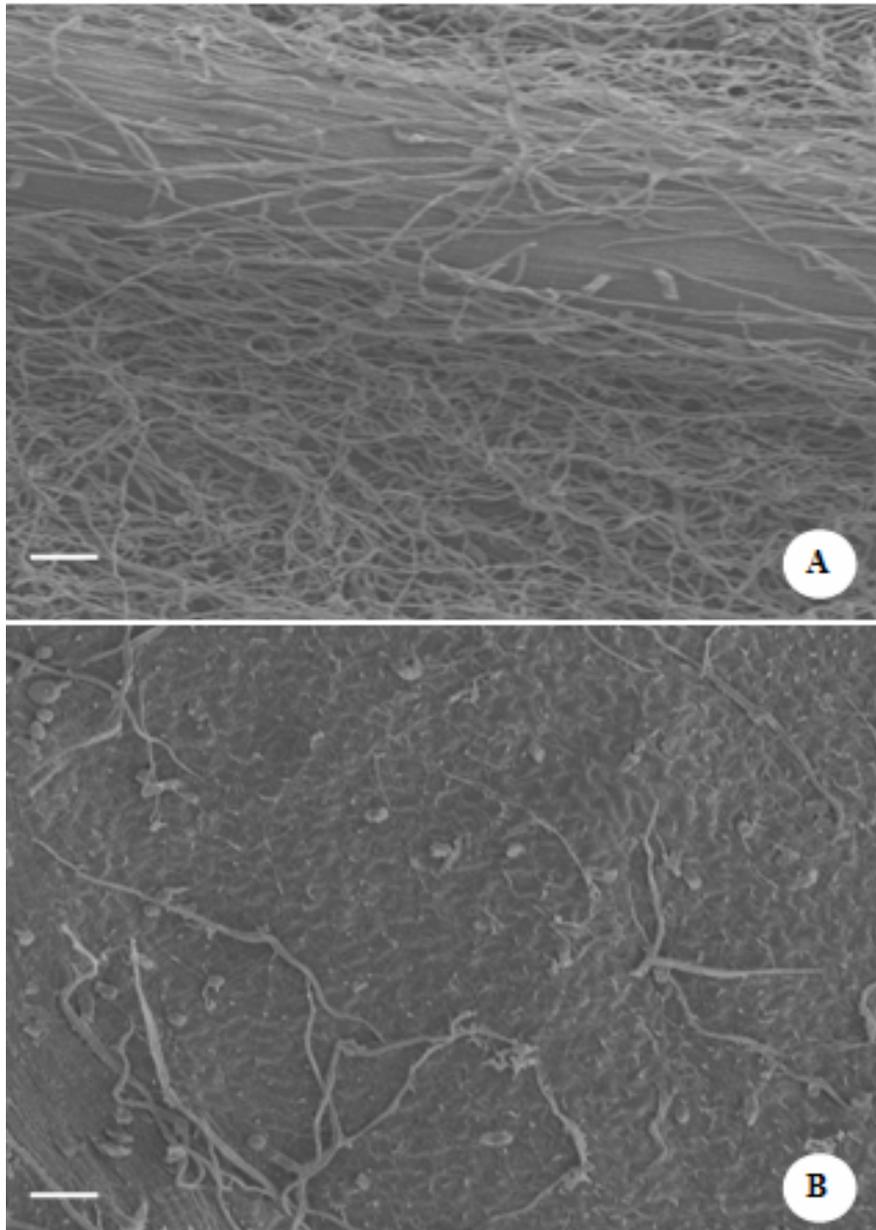
Os tricomas glandulares são estruturas secretoras de óleo essencial, frequentemente presentes nas Lamiaceae, variando o número de células secretoras, o comprimento da célula peduncular, a quantidade do óleo secretado, a densidade e seu arranjo na epiderme (Metcalf & Chalk, 1983). Os tricomas glandulares peltados e capitados são diferentes quanto a morfologia, início e duração da atividade secretora, modo de secreção e tipo de material secretado.



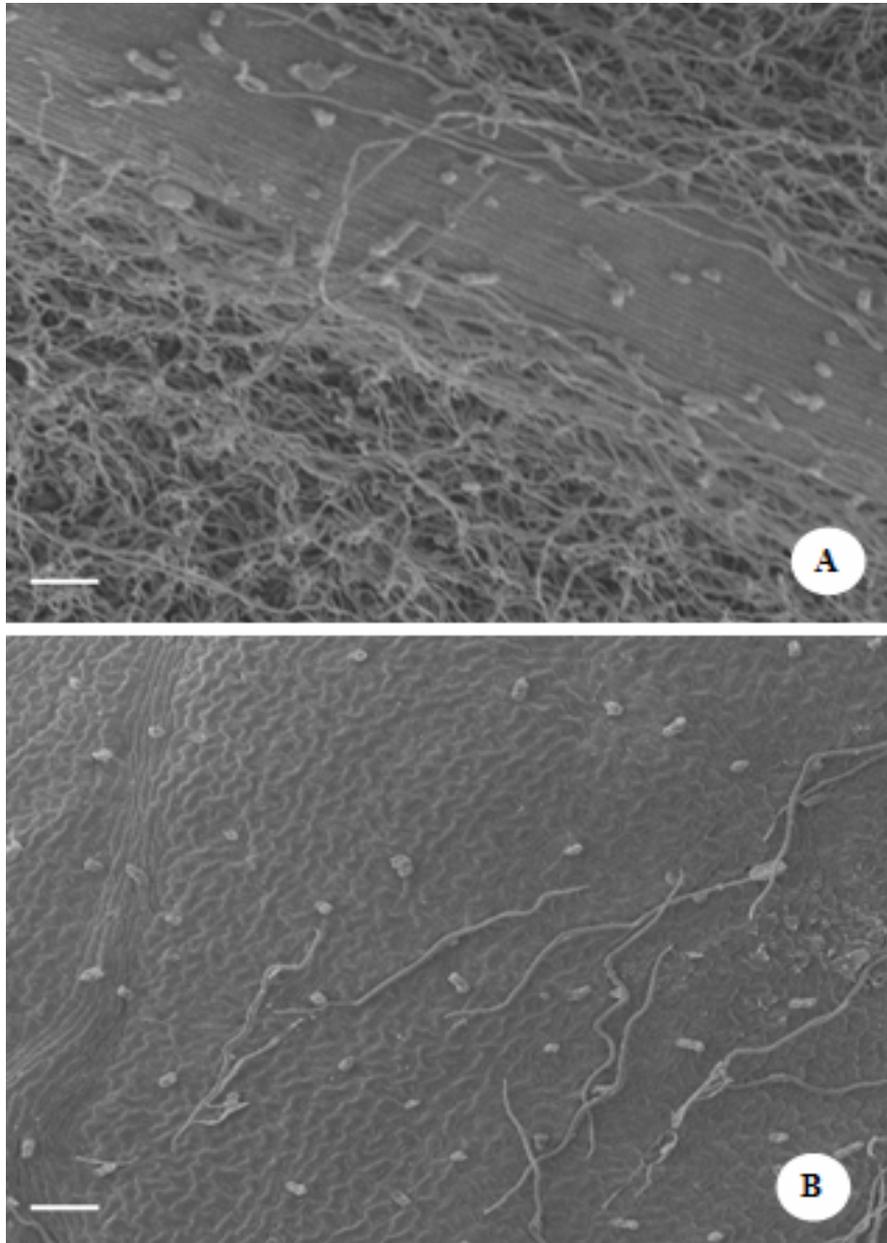
**FIGURA 6.** Eletromicrografia de epiderme Abaxial (A) e Adaxial (B) de lâminas foliares de *A. vulgaris* submetidas a pleno sol. Barra corresponde a 100 $\mu$ m. UFLA, Lavras, MG. 2006.



**FIGURA 7.** Eletromicrografia de epiderme Abaxial (A) e Adaxial (B) de lâminas foliares de *A. vulgaris* submetidas à tela preta. Barra corresponde a 100µm. UFLA, Lavras, MG. 2006



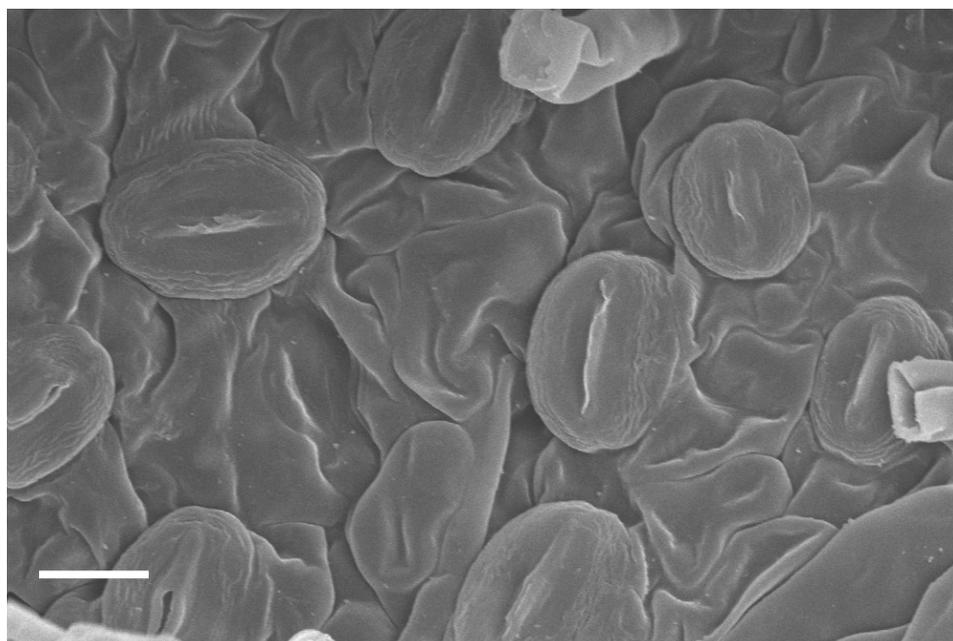
**FIGURA 8.** Eletromicrografia de epiderme Abaxial (A) e Adaxial (B) de lâminas foliares de *A. vulgaris* submetidas à tela azul. Barra corresponde a 100µm. UFLA, Lavras, MG. 2006



**FIGURA 9.** Eletromicrografia de epiderme Abaxial (A) e Adaxial (B) de lâminas foliares de *A. vulgaris* submetidas à tela vermelha. Barra corresponde a 100 $\mu$ m. UFLA, Lavras, MG. 2006

Em relação à presença de estômatos (Figura 8) observou-se, nas eletromicrografias de microscopia eletrônica de varredura, que se trata de uma folha hipoestomática. Os estômatos são encontrados em um plano superior em relação às células sinuosas da epiderme, sendo estes chamados salientes (Castro & Daniel, 2002). Devido à grande quantidade de tricomas tectores, foi inviável a contagem do número de estômatos, bem como da tomada de suas medidas.

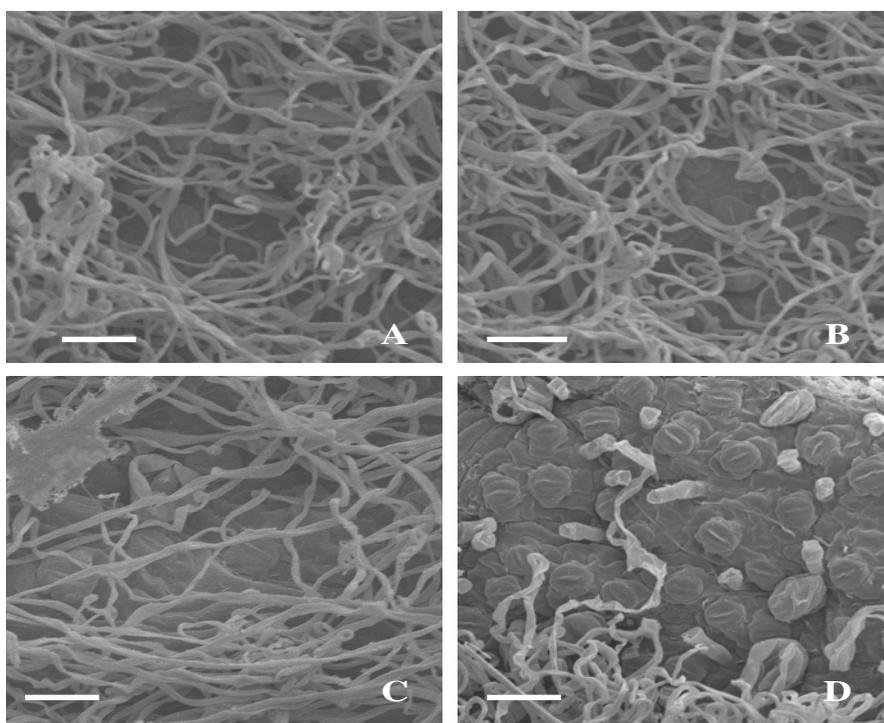
Observam-se, nas lâminas foliares de *A. vulgaris*, estômatos do tipo diacítico (Figura 8).



**FIGURA 10.** Eletromicrografia de epiderme abaxial de lâminas foliares mostrando estômatos do tipo diacítico de *A. vulgaris*. Barra corresponde a 100 $\mu$ m. UFLA, Lavras, MG. 2006

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

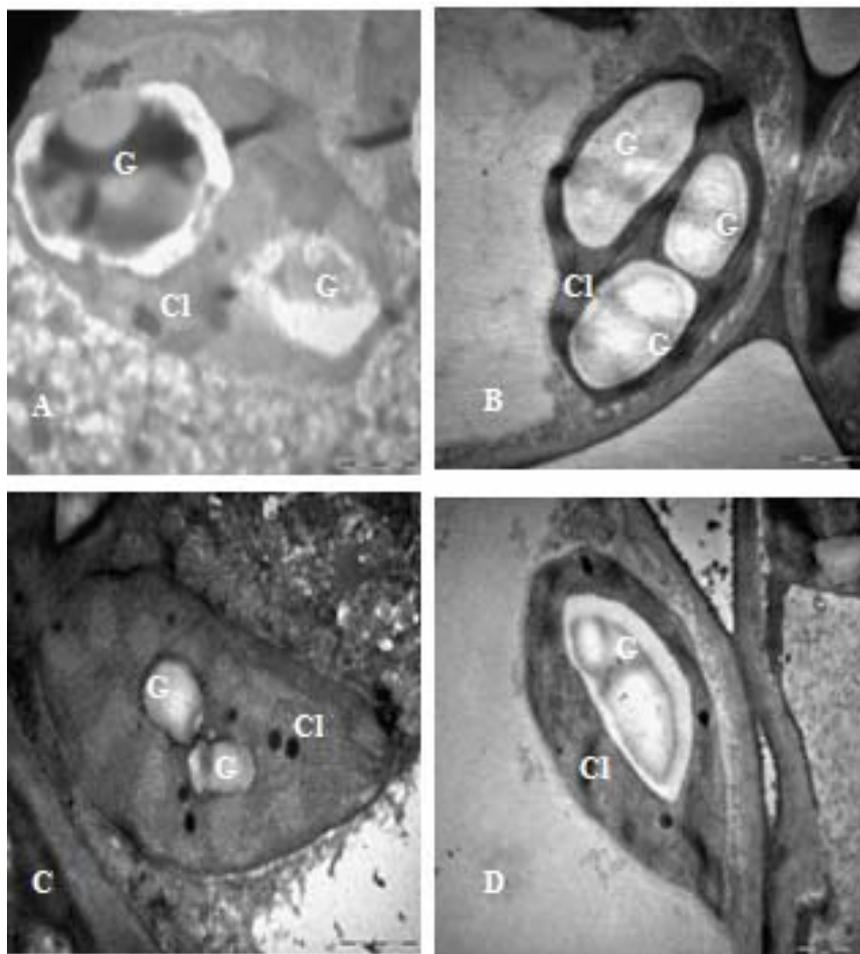
espécie vegetal a um ambiente. Segundo o autor, uma forma segura de indicar a funcionalidade estomática seria o formato das células guarda e a relação entre o diâmetro polar e equatorial dos estômatos. Khan et al. (2002) afirmam que quanto maior a relação diâmetro polar/equatorial, mais elipsóide será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



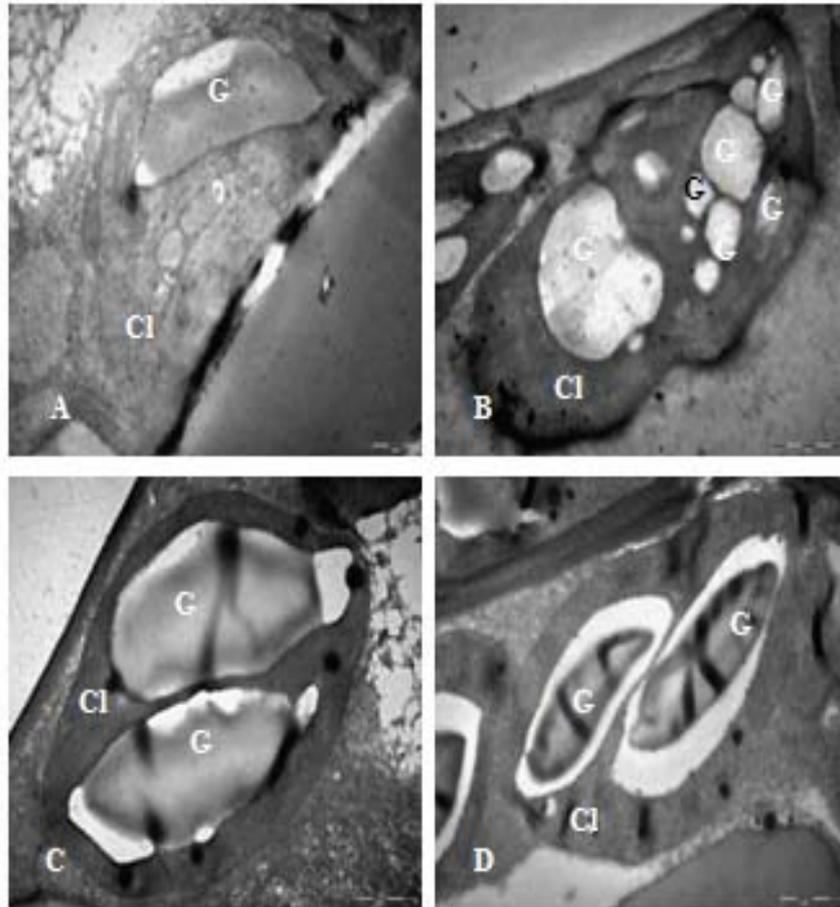
**FIGURA 11.** Eletromicrografia de epiderme abaxial de lâminas foliares mostrando estômatos de *A. vulgaris* submetidas a diferentes espectros luminosos. A (pleno sol); B (tela preta); C (tela azul); D (tela vermelha). Barra corresponde a 100µm. UFLA, Lavras, MG. 2006

#### 4.5 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A ultraestrutura dos cloroplastos de lâminas foliares de *A. vulgaris* é mostrada nas Figuras 6 e 7.



**FIGURA 12.** Eletromicrografia de transmissão (MET) mostrando cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima lacunoso de lâminas foliares de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de sombreamento. **A** (pleno sol), **B** (tela preta 50%), **C** (tela azul 50%) e **D** (tela vermelha 50%). **Cl** – cloroplasto, **G** – grão de amido no interior do cloroplasto. Barra de 2 $\mu$ m. UFLA, Lavras, MG, 2006.



**FIGURA 13.** Eletromicrografia de transmissão (MET) mostrando cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima paliçádico de lâminas foliares de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de sombreamento. **A** (pleno sol), **B** (tela preta 50%), **C** (tela azul 50%) e **D** (tela vermelha 50%). **Cl** – cloroplasto, **G** – grão de amido no interior do cloroplasto. Barra de 1 $\mu$ m. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Observa-se que a estrutura e o tamanho, bem como o número de cloroplastídeos, sofreram variações em função dos diferentes espectros

luminosos a que foram submetidos, tanto no parênquima paliçádico quanto no esponjoso (Tabelas 7 e 8).

As folhas de plantas cultivadas sob tela preta têm maior número de cloroplastídeos por células, tanto no parênquima paliçádico como no esponjoso, sendo o ambiente com tela vermelha o que mostrou menor número de cloroplastídeos também para os dois tipos de parênquimas (Tabelas 7 e 8). Espécies com mesofilo dorsiventral apresentam a grande maioria dos cloroplastos nas células do parênquima paliçádico.

O comprimento e a altura dos cloroplastídeos foram maiores nas células do parênquima paliçádico do que no parênquima esponjoso (Tabelas 7 e 8). As plantas cultivadas a pleno sol apresentaram cloroplastídeos com maior altura que os demais tratamentos, sendo as plantas cultivadas sob tela preta as que apresentaram menor altura para cloroplastídeos (Tabela 8).

A maior altura de cloroplastídeos observados no parênquima esponjoso foi no tratamento a pleno sol e, em seguida, nos tratamentos com tela azul, vermelha e preta, os quais variaram entre si (Tabela 8)

A menor largura de cloroplastídeos em parênquima paliçádico foi observada em células de plantas cultivadas no tratamento com tela preta, e a maior largura, em tratamento com telas azul e preta (Tabela 7).

As plantas que apresentaram menor largura de cloroplastídeos no parênquima lacunoso foram cultivadas sob telas preta e vermelha e a maior largura foi observada em tratamento com tela azul (Tabela 8).

**TABELA 7.** Valores médios do número de cloroplastídeos por células do parênquima paliçádico, sua área ( $\mu\text{m}^2$ ), perímetro ( $\mu\text{m}$ ), altura ( $\mu\text{m}$ ) e largura ( $\mu\text{m}$ ) de *A. vulgaris* submetidas a diferentes espectros luminosos. UFLA, Lavras, MG, 2006.

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de

Espectros luminosos	Cloroplastídeos em células do Parênquima Paliçádico				
	Cloroplastídeo por célula	Área	Perímetro	Altura	Largura
<b>Pleno Sol</b>	10.50 b	17.75 a	17.25 b	6.37 c	3.62 c
<b>Preto</b>	12.75 a	6.69 b	10.66 a	3.73 a	2.21 b
<b>Azul</b>	10.85 b	15.87 a	15.25 b	5.25 b	3.63 c
<b>Vermelho</b>	7.75 c	16.55 a	15.85 b	5.65 bc	2.97 bc

Tukey a 5% de probabilidade.

**TABELA 8.** Valores médios do número de cloroplastídeos por células do parênquima esponjoso, sua área ( $\mu\text{m}^2$ ), perímetro ( $\mu\text{m}$ ), altura ( $\mu\text{m}$ ) e largura ( $\mu\text{m}$ ) de *A. vulgaris* submetidas a diferentes espectros luminosos. UFLA, Lavras, MG, 2006.

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de

Espectros luminosos	Cloroplastídeos em células do Parênquima Esponjoso				
	Cloroplastídeo por célula	Área	Perímetro	Altura	Largura
<b>Pleno Sol</b>	5.62 ab	11.62 a	14.51 a	5.01 a	3.12 ab
<b>Preto</b>	6.00 a	5.99 b	10.15 b	3.59 c	2.39 b
<b>Azul</b>	5.50 ab	14.01 a	14.49 a	4.62 ab	3.87 a
<b>Vermelho</b>	4.50 b	7.50 b	9.87 b	4.02 bc	2.87 b

Tukey a 5% de probabilidade.

Em todos os tratamentos, os cloroplastídeos foram observados próximos à parede celular; somente nas plantas mantidas a pleno sol observaram-se alguns cloroplastídeos dispersos no meio intracelular. Devido à forma e ao arranjo dessas células, os cloroplastídeos podem se dispor paralelamente às paredes

celulares, aumentando a eficiência fotossintética ou reduzindo os danos pelo excesso de luz.

Segundo Bolhàr-Nordenkamp & Draxler (1993), as mudanças que ocorrem em um ambiente de luz induzem adaptações nos cloroplastos, modificando propriedades das membranas dos tilacóides, como o arranjo dos cloroplastos nas células. Os cloroplastos tendem a se movimentar em direção anticlinal à parede das células sob luz intensa para reduzir a absorção pelas folhas. No parênquima paliçádico, os cloroplastos podem estar aglomerados, formando uma haste próxima a paredes periclinais, ou podem estar aderidos longitudinalmente a paredes anticlinais, funcionando como um tubo para passagem da luz para o parênquima esponjoso situado logo abaixo do parênquima paliçádico, isso em uma folha dorsiventral. Os cloroplastos no parênquima esponjoso podem também se orientar de acordo com a quantidade e a qualidade de luz penetrada. A movimentação dos cloroplastos pode aumentar o coeficiente de absorção de luz pelas folhas em até 20% e, assim, contribuir para adaptação em curto prazo após mudanças de condições de baixa para alta irradiância ou vice-versa

Em todos os tratamentos observou-se a presença de grãos de amido nos cloroplastídeos. Tanto no parênquima paliçádico como no parênquima lacunoso observou-se maior número de grãos de amido no tratamento com tela preta, o qual apresentou diferença em relação aos tratamentos pleno sol, telas azul e vermelha. Quanto à área e ao perímetro dos grãos de amido, observou-se a menor área no tratamento com tela preta, o qual apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos (Tabelas 8 e 9). Isso se deve ao fato de que quanto maior o número de grãos de amido, menores eles se apresentam (Figuras 8 e 9).

A altura dos grãos de amido foi menor no tratamento de tela preta e maior em tratamento de tela azul, sendo os intermediários os tratamentos pleno

sol e tela preta, no parênquima paliçádico; no parênquima lacunoso, a altura é menor no tratamento de tela preta, apresentando diferença significativa em relação aos demais tratamentos. Em relação à largura dos grãos de amido, observa-se a menor no tratamento com tela preta, o qual tem diferença em relação aos demais. No parênquima paliçádico e no parênquima lacunoso, a largura dos grãos de amido foi menor nos tratamentos pleno sol e tela preta, diferenciando-se dos outros dois tratamentos (Tabelas 8 e 9).

TABELA 8. Valores médios do número de grãos de amido por cloroplastídeos no parênquima paliçádico, sua área ( $\mu\text{m}^2$ ), perímetro ( $\mu\text{m}$ ), altura ( $\mu\text{m}$ ) e largura ( $\mu\text{m}$ ) de plantas jovens de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de luminosidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Espectro de luz	Grãos de amido em células do Parênquima Paliçádico				
	Grãos de amido por cloroplastídeo	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Perímetro ( $\mu\text{m}$ )	Altura ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )
Pleno Sol	1.87 b	1.50 bc	5.50 ab	1.75 bc	1.25 ab
Preto	7.62 a	0.62 c	2.87 b	1.12 c	0.87 b
Azul	2.12 b	3.30 a	6.12 a	3.25 a	1.63 a
Vermelho	1.50 b	2.25 ab	6.75 a	2.50 ab	1.00 b

TABELA 9. Valores médios do número de grãos de amido por cloroplastídeos no parênquima lacunoso, sua área ( $\mu\text{m}^2$ ), perímetro ( $\mu\text{m}$ ), altura ( $\mu\text{m}$ ) e largura ( $\mu\text{m}$ ) de plantas jovens de *A. vulgaris* submetidas a diferentes espectros luminosos. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Espectro de luz	Grãos de amido em células do Parênquima Paliçádico				
	Grãos de amido por cloroplastídeo	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Perímetro ( $\mu\text{m}$ )	Altura ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )
Pleno Sol	1.62 b	2.43 ab	6.50 ab	1.75 ab	1.27 b
Preto	3.62 a	1.07 c	4.62 b	1.62 b	1.00 b
Azul	1.75 b	3.37 a	7.50 a	2.62 a	1.62 a
Vermelho	1.50 b	1.80 bc	6.00 ab	2.12 ab	1.12 ab

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

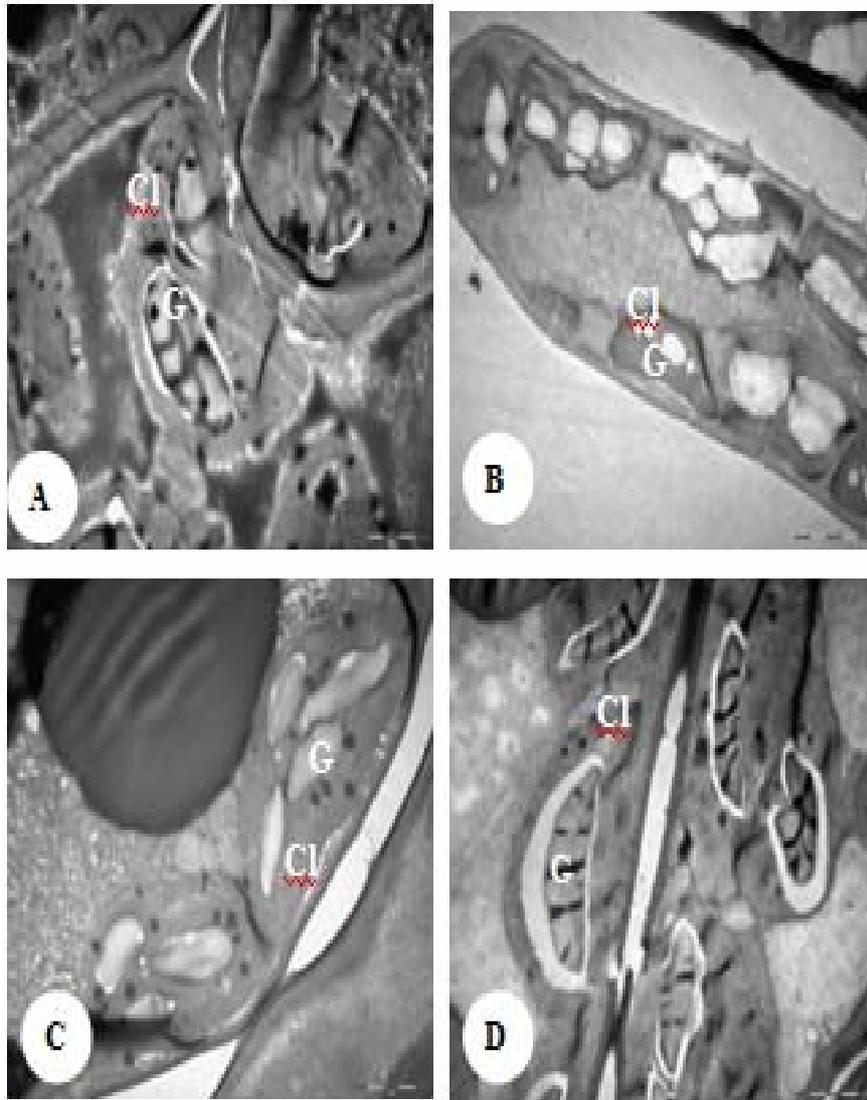


FIGURA 14. Eletromicrografia de transmissão (MET) mostrando grãos de amido no interior dos cloroplastídeos nas células do parênquima paliçádico de lâminas foliares de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de sombreamento. A (pleno sol), B (tela preta 50%), C (tela azul 50%) e D (tela vermelha 50%). Cl – cloroplasto, G – grão de amido no interior do cloroplasto. Barra de 1 $\mu$ m. UFLA, Lavras, MG, 2006.

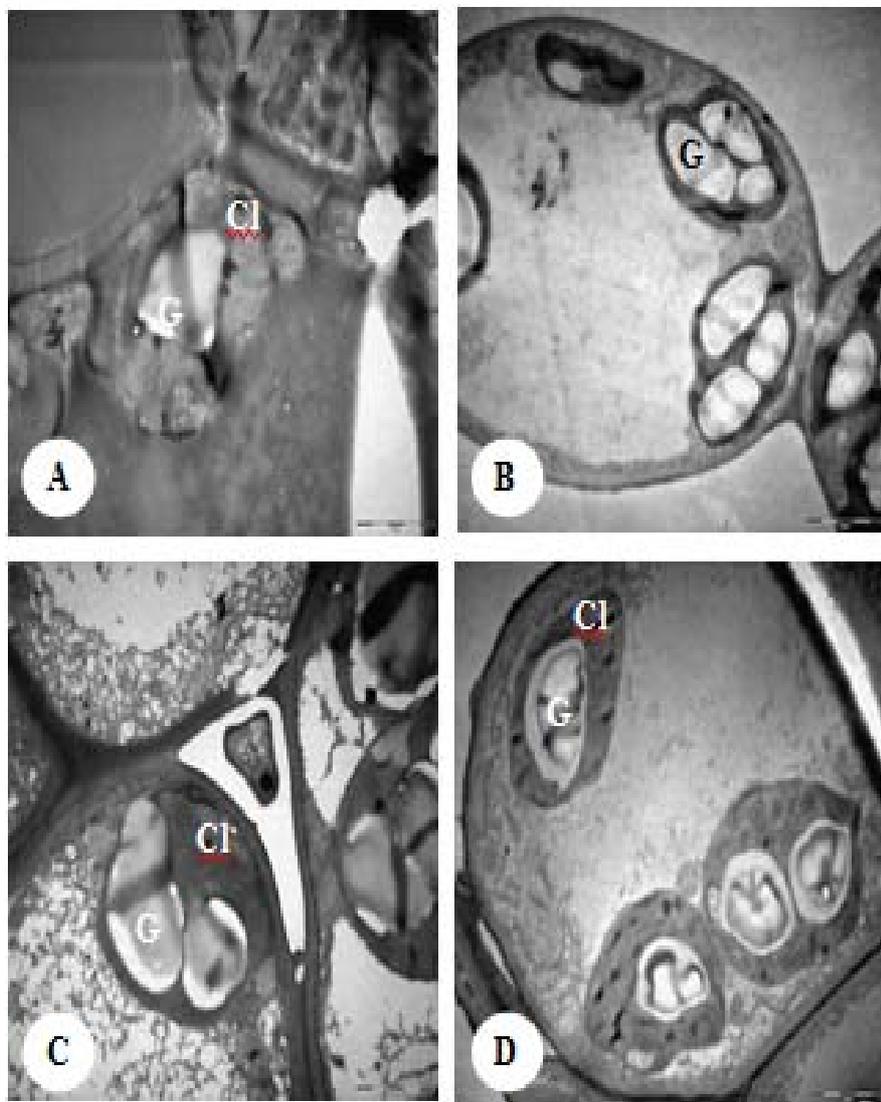


FIGURA 15. Eletromicrografia de transmissão (MET) mostrando grãos de amido no interior dos cloroplastídeos nas células do parênquima lacunoso de lâminas foliares de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de sombreamento. A (pleno sol), B (tela preta 50%), C (tela azul 50%) e D (tela vermelha 50%). Cl – cloroplasto, G – grão de amido no interior do cloroplasto. Barra de 1μm. UFLA, Lavras, MG, 2006.

O cloroplasto forma e acumula amido (de assimilação) e as dimensões desses grãos de amido podem variar de acordo com o período do dia, à medida que os açúcares são formados e, temporariamente, armazenados como amido. Estes grãos tendem a desaparecer no escuro e a aumentar na presença de luz (Gomes, 2004).

Os resultados observados em *A. vulgaris* são confirmados por Schuerger et al. (1997), que afirmam que a luz azul é importante para o desenvolvimento dos cloroplastos e tem se mostrado mais eficiente que a luz vermelha. Leong et al. (1985) afirmam que a exposição à radiação na faixa do vermelho-distante durante o crescimento e desenvolvimento foliar influencia significativamente o desenvolvimento dos cloroplastídeos.

#### **4.6 Teores de clorofila**

A análise dos teores de clorofilas e carotenóides revelou variabilidade nos tratamentos submetidos a diferentes espectros luminosos (Tabela 9).

Em plantas cultivadas a pleno sol, os teores de clorofilas *a e b* e total foram reduzidos em relação às plantas cultivadas sob telas preta, azul e vermelha. Diversos trabalhos, como os de Atroch (1999), Castro (2002), Engel & Poggiani (1991), Gomes (2004) e Lee et al. (2000), também relatam menores teores de clorofilas em plantas cultivadas a pleno sol em relação às sombreadas. Pode-se, portanto, inferir que a quantidade de radiação influencia fortemente os teores de pigmentos cloroplastídeos.

Dentre as plantas sombreadas, as que apresentaram maior teor de clorofila *a e b* e total foram aquelas cultivadas sob tela preta. Larcher (2004) afirma que as alterações no conteúdo dos pigmentos em resposta à composição espectral da luz constituem uma adaptação cromática, que proporciona vantagem ecológica em virtude da melhoria no desempenho fotossintético da planta.

As plantas cultivadas sob telas apresentaram menor razão clorofila *a* e *b* do que aquelas cultivadas a pleno sol. A razão entre clorofila *a* e *b*, de maneira geral, tende a diminuir com a redução da intensidade luminosa (Boardman, 1977; Kramer, 1979), 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). O aumento da proporção de clorofila *b* é uma característica importante de ambientes sombreados, uma vez que ela capta energia de outros comprimentos de onda e a transfere para a clorofila *a*, maximizando, assim, a captura de luz que efetivamente atua nas reações. 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). Estes resultados concordam com os obtidos por Atroch (1999), Castro (2002), Gomes (2004) e Lee et al. (2000).

A diferença encontrada entre os teores de clorofila *a* e *b* e total, bem como na razão clorofila *a/b* nas plantas de *Artemisia vulgaris*, evidenciam que essa espécie dispõe de diferentes estratégias no acúmulo e uso dos pigmentos fotossintéticos em diferentes condições de luminosidade.

**TABELA 9:** Teores de clorofila *a*, *b*, total ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  de matéria fresca) e relação clorofila *a/b* em plantas de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de luminosidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Condição de luminosidade	Clorofila a ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	Clorofila b ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	Clorofila total ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	Relação clorofila a/b
Pleno Sol	59.43 c	25.33 b	84.76 c	2.34 a
Preto	103.76 a	53.50 a	157.23 a	1.93 b
Azul	73.98 b	42.45 b	116.43 b	1.74 b
Vermelho	78.55 b	41.29 b	119.84 b	1.91 b

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A luz azul influencia a biossíntese de clorofila e outros pigmentos por meio da regulação da expressão de determinados genes (Tsnoyama et al., 2002). Isto pode explicar o maior vigor foliar encontrado para todas as variedades tratadas com tela azul. Embora não tenha sido feita uma avaliação formal, as folhas das plantas tratadas com luz azul apresentavam-se mais verdes e brilhantes.

#### **4.7 Teores de carotenóides**

Plantas cultivadas a pleno sol e sob tela preta foram as que apresentaram maior teor de carotenóides (Tabela 10). Os carotenóides são pigmentos que funcionam como fotoprotetores por meio do rápido *quenching* dos estados excitados da clorofila (Taiz & Zeiger, 2004). Gonçalves et al. (2001), trabalhando com mogno e cumaru sob dois ambientes de luz, verificaram que os teores de carotenóides ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  MF) foram sempre maiores no ambiente de pleno sol. Garcia-Plazzola et al. (2001), em trabalhos com *Querus ilex*, observaram aumentos consideráveis nos teores de carotenóides e antioxidantes em folhas a pleno sol, em relação às folhas de sombra, e atribuíram esse fenômeno à capacidade de resistência à fotooxidação por excesso de luz.

Todos os carotenóides absorvem fortemente a energia na mesma aérea do espectro de radiação (do ultravioleta ao azul), mas a forma do espectro de absorção de cada carotenóide é única. Constituem integralmente as membranas dos tilacóides e estão, em geral, intimamente associados aos pigmentos protéicos das antenas e dos centros de reação. A luz absorvida pelos carotenóides é transferida à clorofila para o processo de fotossíntese (Weaver & Wrigley, 1994).

O menor teor de carotenóides foi observado em plantas de *Artemisia vulgaris* cultivadas sob telas azul e vermelha (Tabela 10). As plantas sob tela azul foram, provavelmente, beneficiadas na captação de radiação, em relação às

demais sombreadas, uma vez que os carotenóides absorvem a luz na região dos 400-500nm, faixa da luz azul do espectro.

**TABELA 10:** Teores de carotenóides ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  de matéria seca) em folhas de plantas de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Condições de luminosidade	Carotenóide ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)
Pleno Sol	2611.91 b
Preto	2534.91 b
Azul	1905.76 a
Vermelho	1701.64 a

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.  
Teor de óleo essencial

Na Tabela 11 encontram-se os dados de teor de óleo essencial de folhas de *A. vulgaris*. O tratamento com maior teor de óleo essencial foi o vermelho, seguido do tratamento a pleno sol e dos tratamentos preto e azul, os quais não diferiram entre si.

**TABELA 11:** Teores de óleo essencial ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  de matéria seca) em folhas de plantas *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Condições de luminosidade	Teor de óleo essencial %
Pleno Sol	0.56 b
Preto	0.47 c
Azul	0.45 c
Vermelho	0.76 a

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fatores ambientais isolados exercem influência no teor de princípios ativos; quando associados, esta influencia é mais expressiva. Pode-se inferir,

portanto, que o sombreamento, sobretudo o proporcionado pela malha vermelha, é eficaz na ativação das rotas do metabolismo secundário em *A vulgaris*. 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 fenólicos (Taiz & Zeiger, 2004).

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; já em *Salvia officinalis*, as plantas crescidas no sombreamento parcial apresentaram o maior teor de óleo. Este estudo mostra que a qualidade e a intensidade luminosa afetam a produção de óleo essencial até mesmo em espécies da mesma família.

As variações nos percentuais dos teores de óleo essencial em função de alterações na qualidade e intensidade espectral da radiação solar evidenciam que o estabelecimento de espectros luminosos 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 metabólicos, as quais, por sua vez, podem ser causadas por mudanças na permeabilidade da membrana mediada pelo fitocromo e por mudanças enzimáticas resultantes da atividade de genes-chave (Tanaka et al., 1989).

A família Asteraceae possui espécies de grande importância alimentícia, cosmética e farmacêutica devido à produção de óleos essenciais. No entanto, é pouco explorada quando comparada com representantes da família Lamiaceae, consagrada pela presença desses óleos (Hay & Svoboda, 1993).

## 5 CONCLUSÕES

As plantas jovens de *Artemisia vulgaris* L. possuem plasticidade fisiológica e anatômica de acordo com os diferentes espectros luminosos. O melhor desempenho vegetativo das mudas ocorreu sob condições de sombreamento.

As telas coloridas alteraram alguns parâmetros de crescimento em *A. vulgaris*, como a altura das plantas e o limbo foliar, o que evidenciou uma plasticidade fenotípica relacionada à qualidade espectral da luz.

Os cloroplastídeos das células do parênquima paliádico e lacunoso variam quanto à estrutura, ao número e ao tamanho em função das diferentes condições de luminosidade. Em todos os tratamentos observa-se a presença de grãos de amido nos cloroplastídeos, sendo as plantas cultivadas sob tela preta as que apresentam maior número de grãos de amido por cloroplastídeo.

Os teores percentuais de óleo essencial de *A. vulgaris* variam tanto em função da intensidade quanto da qualidade de luz. Sob sombreamento, o maior rendimento percentual para produção de óleo essencial ocorreu em plantas cultivadas sob malha vermelha.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L. P. **Germinação, crescimento inicial e anatomia foliar de plantas jovens de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. Sob diferentes níveis de radiação.** 2001. 96 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

AMO, S. R. Del Alguns aspectos de la influencia de la luz sobre el crecimiento de estados juveniles de especies primarias. In: GOMES-POMPA, A.; AMO, S. R. del. **Investigaciones sobre la regeneracion de selvas altas em Vera Cruz.** México: Instituto Nacional de investigações sobre recursos bióticos, Ed. Alhambra Mexicana & A, 1985. p. 79-92.

ASHTON, M. S.; BERLYN, G. P. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. **New Phytologist**, Cambridge, v. 121, n. 4, p. 587-596, Aug. 1992

APPELGREN, M. Effects of light quality on stem elongation of Pelargonium in vitro. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 45, n. 3/4, p. 1-15, Jan. 1991.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxylase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Maryland, v. 24, n. 1, p. 1-15, Jan. 1949.

ASHTON, P. M. S.; BERLYN, G. P. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. **New Phytologist**, Cambridge, v. 121, n. 4, p. 587-596, Aug. 1992

BALLARÉ, C. L.; SCOPEL, A. L.; SÁNCHEZ, R. A. Foraging for light: photosensory ecology and agricultural implications. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 20, n. 6, p. 820-825, June 1997.

BARREIRO, R.; GUAMET, J. J.; BELTRANO, J.; MONTALDI, E. R. Regulation of 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.

BLANCO, M. C. S. G. Biomassa e mucilagem da tranchagem (*Plantago major* L), em função das adubações orgânicas, mineral e mista e da supressão das inflorescências. In: \_\_\_\_\_. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônoma.** Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1998. p. 53-79.

BJÖRKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O.; NOBEL, P. S.; OSMONA, C. B.; ZIEGLER, H. (Ed.). **Physiological plant ecology. I. Responses to the physical environment**. New York: Springer-Verlag, 1981. p. 57-60. (Encyclopedia of Plant Physiology).

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. **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall. 1993. p. 91-112.

BRIGHENTI, A. M.; SILVA, J. F.; LOPES, N. F.; CARDOSO, A. A.; FERREIRA, L. R. Crescimento e partição de assimilados em losna. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 5, n. 1, p. 41-45, jan. 1993.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, Stuttgart, v. 61, n. 8, p. 255, 1972.

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

CHAPIN, F. S.; BLOOM, A. J.; FIELD, C. B.; WARING, R. H. Plant responses to multiple environmental factors. **BioScience**, Wahington, v. 37, n. 1, p. 49-57, Jan. 1987.

CLARK, R. J.; MENARY, R. C. Environmental effects on Peppermint (*Mentha piperia* L.) I. Effects of daylength, photon flux density, night temperature and day temperature on the yield and composition of peppermint oil. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 7, n. 6, p. 685-692, 1980.

CLAUSSEN, J. W. Acclimation abilities of three tropical rainforest seedlings to an increase in light intensity. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 80, n. 1/3, p. 245-255, Jan. 1996.

CORREA JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SHEFFER, M. C. Importância do cultivo de plantas medicinais, condimentos e aromáticas. **SOB Informa**, Piracicaba, v. 9/10, n. 1/2, p. 23-24, 1 sem. 1994.

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

DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant biochemistry**. London: Academic, 1997. 544 p.

DEBERG, P. C. Control of in vitro plant propagation. In : SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BIOTECNOLOGIA DE PLANTAS, 1., 1997, Piracicaba-SP. **Anais...** Piracicaba: CEBTEC-FEALQ-USP, 1997.

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

DUKE, S. O.; PAUL, R. N. Effects of dimethazone (FMC-57020) on chloroplast development. II. Ultrastructural effects in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) primary leaves. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 25, n. 1, p. 1-10, Feb. 1986.

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

FARIAS, V. C. C.; COSTA, S. S.; BATALHA, L. F. P. Análise de crescimento de mudas de cedrorana (*Cedrelinga catenaeformis* (Ducke) Ducke) cultivadas em condições de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 193-200, 1997.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 4. 0. (Software estatístico). Lavras: UFLA/DEX, 1999.

FERRI, M. G. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: EPV, 1985. p. 181-209

GARCIA-PLAZAOLA, J. I.; ARTETXE, U. Diurnal changes in antioxidant and carotenoid composition of storage and biosynthesis of phenylpropanes in sweet basil. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, p. 539-555, 2001.

GAJEGO, E. B. et al. Crescimento de plantas jovens de *Maclura tinctoria* e *Hymenaea courbaril* em diferentes condições de sombreamento. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus, BA, 2001. 1CD-ROM.

GOMES, I. A. C. **Alterações morfofisiológicas em folhas de cafeeiros (*Coffea arábica* L.) "Oeiras" sob influencia do sombreamento por leguminosas.** 2004. 63 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

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

GOULET, F.; BELLEFLEUR, P. Leaf morphology plasticity in response to light environment in deciduous tree species and its implication on forest succession. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 16, n. 6, p. 1192-1195, Dec. 1986.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **An introduction to genetic analysis.** New York: New York and Basingstoke, 1996. p 14-17.

GRIME, J. P. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. **American Naturalist**, Chicago, v. 111, n. 982, p. 1169-1195, 1977.

GRINBERGER, A.; SHOMON, M.; GANELEVIN, R. **Shading nets tesing. Israel:** "Torah Va'aretz" Institute, Kfar Daron, 2000.

GRONINGER, J. W. et al. Growth and photosynthetic responses of four Virginia Piedmont tree species to shade. **Tree Physiology**, Victoria, v. 16, n. 9, p. 773-778, Sept. 1996.

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.

HAY, R. K. M.; SVOBODA, K. P. Botany. In: \_\_\_\_\_. **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production.** Harlow: Longman Scientific & Technical, 1993. p. 5-21.

HOOK, I.; POUPAT, C.; AHOND, A.; GUENARD, D.; GURITE, F.; ADELIN, M. T.; WANG, X. P.; DEMPSY, D.; BRENILLET, S.; POTIER, P. Seasonal variation of neural and basic taxoid contents in shoots of European yew (*Taxus baccata*). **Phytochemistry**, Oxford, v. 52, n. 6, p. 1041-1045, Nov. 1999.

HUNTER, D. C.; BURRIT, D. J. Light quality influences adventitious shoot production from cotyledon explants of lettuce (*Lactuca sativa*). **In Vitro Cell, Development Biology of Plants**, New York, v. 40, n. 2, p. 215-220, Mar./Apr. 2004.

IVANOVA, L. A.; P'YANKOV, V. I. Structural adaptation of the leaf mesophyll to shading. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 49, n. 3, p. 419-431, 2002.

JONES, R. H.; McLEOD, K. W. Growth and photosynthetic responses to a range of light environments in Chinese tallow tree and Carolina ash seedlings. **Forest Science**, Bethesda, v. 36, n. 4, p. 851-862, 1940.

KHAN, P. S. S. V. et al. 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, 2002.

KE, G. Different responses to shade of evergreen and deciduous oak seedling and the effect on acorn size. **Acta Oecologica**, Berlin, v. 20, n. 6, p. 579-586, 1999

KRAMER, J. P.; KOZLOWSKI, 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.

LEAL, T. C. A. B.; FREITAS, S. P.; SILVA, J. F.; CARVALHO, A. J. C. Produção de biomassa e Óleo essencial em plantas de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., Poaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 5, n. 2, p. 61-64, 2003.

LEE, D. W.; BONE, S. T.; STORCH, D. Correlates of optical properties in tropical forest extreme shade and sun plants. **American Journal of Botany**, Ames, v. 77, n. 3, p. 370-380, Mar. 2000.

LEITE, I. T. A. **Aspectos fisiológicos da germinação de sementes de *Miconia cinnamomifolia* (DC.) Naud.-Melastomataceae**. 2004. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

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

LEWINSOHN, E.; DUDAI, N.; TADMOR, Y.; KATZIR, I.; RAVID, U.; JOEL, D. M. Histochemical localization of citral accumulation in lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., Poaceae). **Annals of Botany**, London, v. 81, n. 1, p. 35-39, Jan. 1998.

LI, Y.; CRACKER, 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. 419-429, 1996.

LOPES, R. C.; CASALI, V. W. D.; BARBOSA, L. C. A.; CECON, P. R. Influencia de três regimes hídricos na produção de óleo essencial em sete acessos de *Polygonum punctatum* Ell. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 3 n. 2, p. 7-10, abr. 2001.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo: Nova Odessa, 2002. v. 1, 386 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 2000. 352 p.

MARKS, T. R.; SIMPSON, S. E. Effect of irradiance on shoot development in vitro. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 28, n. 2, p. 133-142, June 1999.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 220 p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**. 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1983.

MING, L. C. Adubação orgânica no cultivo de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. – Verbenaceae. In: \_\_\_\_\_. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentos**: avanços na pesquisa agrônômica. Botucatu: UNESP, 1998. v. 1, p. 165-191.

MING, L. C. **Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função de fases de desenvolvimento, calagem e adubações mineral e orgânica em *Ageratum coyoides* L.** 1996. 65 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

MORAIS NETO, S. P.; GONÇALVES, J. L. de M.; TAKAKI, M. ; CENCI, S.; GONÇALVES, J. C. Crescimento de mudas de algumas espécies arbóreas que ocorrem na mata atlântica em função do nível de luminosidade. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 35-45, jan./mar. 2000.

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.

MORVILLO, C.; GIL, A. Relationships between plant density, biomass and essential oil production in seven *Aloysia citriodora* accessions from Argentina and Chile. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM BREEDING RESEARCH ON MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS, 3.; LATIN AMERICAN SYMPOSIUM ON THE PRODUCTION OF MEDICINAL PLANTS AND CONDIMENTS, 2., 2004, Campinas. **Anais...** Campinas, 2004. p. A03-42.

NAVES, V. L. **Crescimento, distribuição de matéria seca, concentração de clorofila e comportamento estomático de mudas de três espécies florestais submetidas à diferentes níveis de radiação fotossinteticamente ativa**. 1993. 76 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras. MG.

NOBEL, P. S. Internal leaf area and cellular CO<sub>2</sub> resistance; photosynthetic implications of variations with growth conditions and plant species. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 40, n. 2, p. 137-144, 1977.

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 Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May 2001.

PIEL, C.; FRAK, E.; Le ROUX, X. GENTY, B. Effects of local irradiance on CO<sub>2</sub> transfer in wainut. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 379, p. 2423-2430, Dec. 2002.

PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. **Cultivo e processamento de plantas medicinais**. Lavras: UFLA, 2002. P47.

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.

REZENDE, G. C. Ocupação Agrícola, Estrutura Agrária e Mercado de Trabalho Rural no Cerrado: O Papel do Preço da Terra, dos Recursos Naturais e das Políticas Públicas. In: HELFAND, S. M.; REZENDE, G. C. (Ed.). **Região e Espaço no Desenvolvimento Agrícola Brasileiro**. Rio de Janeiro: IPEA, 2004. p. 173-212.

RIDDOCH, I.; GRACE, J.; FASEHUN, F. E.; RIDDOCH, B.; LADIPO, D. O. Photosynthesis and successional status of seedlings in a tropical semi-deciduous rain forest in Nigeria. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 79, n. 2, p. 491-503, June 1991.

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.

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

SACRAMENTO, L. V. Reportagem ao natural. **Revista Isto É**, São Paulo, n. 1653, p. 102, 2001.

SAEBO, A.; MORTENSEN, L. M. The influence of elevated CO<sub>2</sub> concentration on growth of seven grasses and one clover species in a cool maritime climate. **Acta Agriculturae Scandinavia Section B-Sorland Plant Science**, Oslo, v. 46 n. 1, p. 49-54, Mar. 1996.

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

SANTOS, E. A. M. Efeito da dose de adubo orgânico e de cobertura morta sobre o crescimento e produção de calêndula em Montes Claros – MG. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, jul. 2002. CD-ROM, Suplemento, 2.

- SCALON, S. P. Q.; ALVARENGA, A. A. Efeitos do sombreamento sobre a formação de mudas de pau-pereira (*Platycyamus regnelli* BENTH.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 17, n. 3, p. 265-270, set./dez. 1993.
- SCHUERGER, A. C.; BROWN, C.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomical features, of pepper plants (*Capsicum annum* 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.; MUSCHAK, 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.
- SHAHAK, Y. Análisis de redes sombreadas com diversas cualidades ópticas sobre la producción de flores. In: INFORME DEL PRIMER AÑO DEL FONDO DEL CIENTÍFICO JEFE DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA, 2004, Israel.
- SIANI, A. C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C.; HENRIQUE, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. S. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, v 3, n. 16, p. 38-43, set./out. 2000.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 1999. 821 p.
- SIMS, D. A.; SEEMANN, J. R.; LUO, Y. Elevated CO<sub>2</sub> concentration has independent effects on **expansion** rates thickness of soybean leaves across lighth and nitrogen gradients. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, n. 320, p. 583-591, Mar. 1998.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- TANAKA, S.; TABATA, M. Light-dependent formation of glandular trichlomes and monoterpenes in thyme seedlings. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 741-744, Mar. 1989.
- TERASHIMA, I. Anatomy of uniform leaf photosynthesis. **Photosynthesis Reasearch**, Dordrecht, v. 31, n. 3, p. 195-212, Mar. 1992

TINOCO, C.; VASQUEZ-YANES, C. Diferencias en poblaciones de *Piper hispidus* bajo condiciones de luz contrastante en una selva alta perenifolia. In: GOMEZ-POMPA, A.; AMO, R. S. (Ed.). **Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Vera Cruz**. Mexico. Alhambra Mexicana, 1985. t. 2, p. 267-281.

TSUNOYAMA, H.; SAKURAI, H.; ICHIKUNI, N.; NEGISHI, Y.; TSUKUDA, T. Blue Light specific and differential expresión of a plastid factor, Sig5 in *Arabidopsis thaliana*. **Febs Letters**, Dordrecht, v. 516, p. 225-228, 2002.

VOGELMANN, T. C.; BORNMAN, J. R.; YATES, D. J. Focusing of light by leaf epidermal cells. **Physiologia Plantarum**, Copenhagem, v. 98, n. 1, p. 43-56, Sept. 1996.

WHATLEY, J. M.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas**. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária Ltda. 1982. 101 p.

WALTERS, M. B.; KRUGER, E. L.; REICH, P. B. Growth, biomass distribution and CO<sup>2</sup> exchange of northern hardwood seedlings in high and low light: relationships with successional status and shade tolerance. **Oecologia**, Berlin, v. 94, p. 7-16. 1993.

WEAVER, E. C.; WRIGLEY, R. **Factores affecting the identification of phytoplankton groups by means of remote sensing**. Moffet Field: NASA, 1994. 121 p. (TM- 108799)

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.

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