

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE VEGETAL

**CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE
ÓLEO ESSENCIAL EM FOLHAS DE *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd- LAMIACEAE
CULTIVADA EM DIFERENTES NÍVEIS DE SOMBREAMENTO**

GOIÂNIA

2014

LAÍS LIMA NABUCO ARAÚJO

**CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE
ÓLEO ESSENCIAL EM FOLHAS DE *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd- LAMIACEAE
CULTIVADA EM DIFERENTES NÍVEIS DE SOMBREAMENTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás
como parte das exigências do programa de Pós-
Graduação em Biodiversidade Vegetal, para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Hyrandir Cabral de Melo

GOIÂNIA

2014

Dedico a Deus, aos meus pais e irmãos, ao meu esposo e toda a minha família, que me apoiaram constantemente para que essa vitória fosse alcançada.

*“Aquele que duvida e não investiga torna-se não só
infeliz, mas também injusto”.*

Pascal.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por abençoar, proteger e iluminar a minha vida.

Aos meus pais, João Elison e Ana Gardênia, pelo exemplo de amor, respeito e por estarem sempre me confortando e guiando nos caminhos mais certos.

Aos meus irmãos, Antônio e Lara, por estarem sempre me apoiando nas minhas decisões.

Ao meu querido esposo, Flávio, pelo amor, ajuda, companheirismo e paciência ao longo dessa caminhada.

A toda minha família (avós, tios, tias, primos e primas), que mesmo estando longe, participaram de forma significativa na minha vitória.

Ao meu sogro Paulo Hernany, a minha sogra Maria José e aos meus cunhados Nina Maria, Tatiane e Thiago por estarem sempre torcendo pelo meu sucesso.

Ao meu orientador Hyrandir Cabral Melo, pelo apoio e confiança prestados a mim durante a condução desse trabalho.

À querida Professora Letícia de Almeida Gonçalves pela co-orientação e amizade.

As minhas amigas, Luma Mota Palmeira Trindade e Yanne Sousa Fernandes, pela amizade estabelecida e pela ajuda sem medir esforços nesses dois anos de trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa (FAPEG) pela bolsa concedida.

Aos responsáveis pelos laboratórios de Fisiologia Vegetal, Anatomia Vegetal do Instituto de Ciências Biológicas, ao LPPN da Faculdade de Farmácia, ao Laboratório de Físico-Química da Faculdade de Engenharia de Alimentos e ao Departamento de Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária, todos da Universidade Federal de Goiás pelo suporte para avaliação dos experimentos.

A Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Goiás- EMATER-GO, especialmente ao Professor João Carlos Mohn pela concessão das mudas de *Tetradenia riparia*.

Ao Professor José Realino de Paula pela ajuda nas análises de óleo essencial e ao Professor Gabriel Luis Castiglioni pela ajuda nas análises de composição centesimal.

Ao amigo Frederico, por toda ajuda concedida quando precisei.

A todos os amigos da turma de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal 2012/1 pela convivência.

Enfim, a todos aqueles que torcem por mim.

RESUMO

CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL EM FOLHAS DE *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd- LAMIACEAE CULTIVADA EM DIFERENTES NÍVEIS DE SOMBREAMENTO. *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd- Lamiaceae, conhecida popularmente como incenso, é uma planta empregada para doenças como malária, angina, gastroenterites, dores de cabeça, bronquite, dentre outras doenças. Seu óleo essencial contém aproximadamente, 200 componentes. Os diterpenóides apresentam atividade antimicrobiana, antiespasmódica e antitricomonas. Considerando a importância da luz sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas, o presente estudo tem como objetivo avaliar características morfofisiológicas, produção e composição de óleo essencial de *Tetradenia riparia* cultivada em diferentes níveis de sombreamento. Para isso, as mudas foram propagadas por estaquia e cultivadas em mini-casas de vegetação completamente cobertas com telas de polietileno pretas produzidas para proporcionar níveis de sombreamento de 30%, 50% e 80% e também a pleno sol o que corresponde aos tratamentos. Folhas foram avaliadas após 150 dias de tratamento. As plantas submetidas a pleno sol tiveram maior espessura do limbo foliar. As plantas cultivadas à sombra tiveram maior área foliar. Não houve diferenças significativas na densidade de estômatos e tricomas na epiderme abaxial. O maior rendimento de óleo essencial ocorreu nas plantas cultivadas nos tratamentos de 30% e 50% de sombreamento. O componente majoritário do óleo essencial das folhas, independente dos tratamentos a que as plantas foram submetidas foi o hidrocarboneto sesquiterpênico 14-hidróxi-9-epi-(E)- cariofileno. Muitos compostos químicos do óleo essencial alteraram o seu teor em função dos tratamentos e outros compostos só foram observados em níveis específicos de sombreamento. O teor de clorofila “a”, total e carotenoides foram maiores nos tratamentos de 50% e 80% de sombreamento. Os teores de clorofila “b” e razão a/b não sofreram alterações nos diferentes tratamentos. Os diferentes níveis de luminosidade não alteraram valores de cinzas. O teor de lipídios foi menor no tratamento de 80% e o teor de proteínas e nitrogênio aumentou com 50% e 80% de sombreamento.

Palavras-chave: Incenso, falsa mirra, anatomia, fisiologia, fotomorfogênese, luz, planta medicinal.

ABSTRACT

MORPHOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS, PRODUCTION AND COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL IN LEAVES OF *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd-LAMIACEAE CULTIVATED AT DIFFERENT LEVELS OF SHADING.

Tetradenia riparia (Hochst) Codd- Lamiaceae, popularly known as incense, is used for diseases like malaria, angina, gastroenteritis , headaches , bronchitis , among other diseases. Its essential oil contains approximately 200 components. The diterpenoids have antimicrobial, antispasmodic and antitricomonas activity. Considering the importance of light on plant growth and development the present study aims to evaluate morphological and physiological characteristics and production and composition of essential oil of *Tetradenia riparia* cultivated at different levels of shading. For this, seedlings were propagated by stem cuttings and grown in mini-greenhouses completely covered with black polyethylene screens produced to provide 30%, 50% and 80 % of levels shading and also grown under open sky. Leaves were evaluated after 150 days of treatment. The plants under open sky had greater foliar blade thickness. Shaded plants had higher leaf area. There were no significant differences in stomata and trichomes in the abaxial epidermis. The highest oil yield occurred in plants grown with 30 % and 50 % shading treatments. The major component of the essential oil, regardless of the treatment, was the sesquiterpenic hydrocarbon 14 - hydroxy -9 - epi - (E) - caryophyllene. Many chemical compounds of the essential oil alter its content according to treatments and other compounds were only observed at specific levels of shading. The total content of chlorophyll, chlorophyll "a" and carotenoids was higher in 50% and 80% treatment shading. The levels of chlorophyll "b" and a / b ratio did not change in different treatments. The different treatments did not change values of ash. The lipid content was lower in the treatment of 80% and increased protein and nitrogen content in 50% and 80% treatment shading.

Keywords: Incense, false myrrh, anatomy, physiology, photomorphogenesis, light, medicinal plant.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura1 Aspecto geral da parte aérea da planta <i>Tetradenia riparia</i> (Hochst) Codd	16
Gráfico1 Radiação na região de Goiânia nos meses de janeiro a julho de 2013	35
Figura 2 Estrutura química da clorofila <i>a</i> e clorofila <i>b</i>	25
Gráfico2 Temperatura na região de Goiânia nos meses de janeiro a julho de 2013	35
Figura3 Estruturas moleculares de carotenoides encontrados nos vegetais	27
Gráfico3 Umidade na região de Goiânia nos meses de janeiro a julho de 2013	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Área foliar (cm ²) e espessura do limbo (µm) de <i>Tetradenia riparia</i> (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento	40
Tabela 2 Densidade de estômatos e tricomas (nº mm ²) de <i>Tetradenia riparia</i> (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento	43
Tabela 3 Percentual de rendimento de óleo essencial de <i>Tetradenia riparia</i> (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento	45
Tabela 4 Composição química dos principais componentes do óleo essencial de <i>Tetradenia riparia</i> (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento	49
Tabela 5 Teores de clorofila <i>a</i> , <i>b</i> , total e carotenoides (mg/g MF) de <i>Tetradenia riparia</i> (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento	55
Tabela 6 Composição centesimal das folhas de <i>Tetradenia riparia</i> (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento.....	60

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. <i>Tetradenia riparia</i> (Hochst) Codd	14
2.2. Plantas medicinais e metabólitos secundários	16
2.2.1. Fatores que influenciam produção de metabólitos secundários.....	19
2.2.2. Produção de óleo essencial e luz	21
2.3. Pigmentos fotossintetizantes	24
2.4. Luz e análise de lipídios, nitrogênio, proteínas e cinzas.....	29
2.5. Luz e morfologia foliar.....	29
3. JUSTIFICATIVA	32
4. OBJETIVOS	33
4.1. Objetivo geral.....	33
4.2. Objetivos específicos.....	33
5. METODOLOGIA.....	34
5.1. Material vegetal e condução dos experimentos.....	34
5.2. Extração e análise da composição de óleo essencial	36
5.3. Análises morfológicas.....	37
5.4. Análise de lipídios, nitrogênio total, proteínas totais e cinzas	38
5.4.1. Teor de gordura	38
5.4.2. Teor de nitrogênio total e proteínas totais.....	38
5.4.3. Cinzas.....	39

5.5. Quantificação de clorofilas e carotenoides	39
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
6.1. Características morfológicas	40
6.1.1. Área foliar e espessura do limbo	40
6.1.2. Densidade de estômatos e tricomas	43
6.2. Óleos essenciais	44
6.2.1. Produção dos óleos essenciais	44
6.2.2. Composição dos óleos essenciais.....	48
6.3. Quantificação de clorofilas e carotenoides	55
6.4 Análises de composição centesimal	59
7. CONCLUSÕES.....	62
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

1. INTRODUÇÃO

A família Lamiaceae é constituída de ervas, arbustos e árvores, com ramos geralmente quadrangulares. Essa família possui distribuição cosmopolita incluindo cerca de 300 gêneros e 7500 espécies. No Brasil ocorrem 26 gêneros e cerca de 350 espécies.

Tetradenia riparia (Hochst) Codd, pertencente à família Lamiaceae é uma planta empregada na medicina popular e conhecida como falsa mirra. As folhas são utilizadas, principalmente, no tratamento de malária, angina, doença tropical de pele, gastroenterites, gonorreia, diarreia, abscessos dentários, dores de cabeça, bronquites, tosses, úlceras, esterilidade feminina, doenças renais, febres e outras. Seu óleo essencial contém aproximadamente 200 componentes. Os diterpenóides, encontrados no óleo essencial desta espécie apresentam atividade antimicrobiana, antiespasmódica e antitricomonas, atuando ainda como inibidor do crescimento de raízes de trigo.

A fitoterapia constitui uma forma de terapia medicinal que vem crescendo notadamente nestes últimos anos, ao ponto que atualmente o mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de aproximadamente 22 bilhões de dólares. Enquanto o mercado mundial de medicamentos químicos cresce 4% ao ano, o mercado fitoterápico cresce até 15% ao ano. Acredita-se que hoje 25% de todas as prescrições mundiais são de fitoterápicos. Essas razões para o crescimento desta cultura passam cada vez mais a ter aceitação do mercado consumidor.

A luz é um dos fatores ambientais que mais influenciam no crescimento e desenvolvimento vegetal, podendo por sua vez, influenciar quantitativamente e qualitativamente na síntese de metabólitos secundários, os quais são a razão para o cultivo de plantas com finalidade farmacológica. Desta forma, estudos de alteração na intensidade luminosa além de contribuir para o conhecimento das condições adequadas de radiação para o cultivo das plantas ainda pode influenciar na composição química, o que é de fundamental importância em estudos de plantas medicinais.

Estima-se que a luz branca influencia a expressão de 20% do genoma em plântulas de arroz e *Arabidopsis*. Para inferir sobre a contribuição da luz em diferentes processos fisiológicos nos vegetais, o cultivo de plantas sob diferentes condições de luminosidade tem sido estudado.

Alterações na disponibilidade de radiação influenciam diretamente na concentração de pigmentos fotossintéticos, alterando a quantidade de clorofila total, assim como a fração de

clorofila *a* em relação à clorofila *b* e carotenoides. Diferentes condições de luminosidade em que as plantas estão expostas também podem influenciar no acúmulo em proporções diferentes de lipídios, nitrogênio, proteínas e cinzas.

Além de modificações que ocorrem nos tecidos fotossintetizantes do mesófilo foliar sob influência de diferentes intensidades luminosas, diversos trabalhos mostram alterações na densidade estomática, número e tamanho das células epidérmicas, número de tricomas, tamanho dos espaços intercelulares e esclerificação de tecidos influenciados por radiação luminosa. Dentre esses fatores, os estômatos apresentam grande importância em estudos anatômicos, envolvendo diferentes ambientes e níveis de radiação, uma vez que o aumento da densidade estomática em folhas expostas a elevada irradiância pode ser um mecanismo importante de tolerância das espécies a uma condição estressante, como, por exemplo, o estresse hídrico.

Este trabalho tem como objetivo através do cultivo de *Tetradenia riparia* em diferentes níveis de sombreamento estudar características morfofisiológicas e avaliar produção e composição do óleo essencial desta espécie.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd

A família Lamiaceae é constituída de ervas, arbustos e árvores, com ramos geralmente quadrangulares. Essa família possui distribuição cosmopolita incluindo cerca de 300 gêneros e 7500 espécies. No Brasil ocorrem 26 gêneros e cerca de 350 espécies (SOUZA e LORENZI, 2005).

As espécies da Família Lamiaceae são nativas principalmente na área do Mediterrâneo, embora algumas tenham origem na Austrália, no Sudoeste da Ásia e na América do Sul. São exemplos as espécies de alecrim (*Rosmarinus* sp.), sálvia (*Salvia* sp.), orégano (*Origanum* sp.), tomilho (*Thymus* sp.), manjeriço (*Ocimum* sp.), manjerona (*Marjorana* sp.), menta (*Mentha* sp.), segurelha (*Satureja* sp.), dentre outras, as quais são estudadas devido às suas propriedades medicinais (MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2007).

Tetradenia riparia (Hochst) Codd, pertencente à família Lamiaceae é uma planta empregada na medicina popular de Ruanda, conhecida popularmente como umuaravumba, cultivada ao redor das casas. As folhas são utilizadas, principalmente, como tratamento para doenças como malária, angina, doença tropical de pele, gastroenterites, gonorreia, diarreia, abscessos dentários, dores de cabeça, bronquites, tosses, úlceras, esterilidade feminina, doenças renais, febres e outras. Estudos de laboratórios confirmam propriedades antimicrobianas desta planta contra *Candida albicans*, *Shigella dysenteriae* e *Streptococcus pyogenes* (VAN PUYELDE, et al., 1986). No Brasil, a espécie *Tetradenia riparia*, foi introduzida como planta ornamental exótica e é cultivada em parques, jardins residenciais e hortos, distribuídas pelo Estado de São Paulo. Conhecida popularmente como incenso, lavândula, limonete, pluma-de-névoa ou falsa mirra é utilizada principalmente como ornamental. A planta exala um aroma intenso muito agradável (MARTINS et al., 2008).

Nas Lamiaceae, a morfologia, distribuição e frequência dos tricomas glandulares e a classe química dos compostos secretados têm sido usados como caracteres discriminativos em nível de subfamília ou em táxons inferiores à família (CANTINO, 1990). A posição sistemática da espécie *Iboza riparia*, após minuciosos estudos, foi revista e verificou-se que as características apresentadas pelos exemplares se adequavam ao gênero *Tetradenia*. Em face disso, houve a mudança do gênero *Iboza* para o gênero *Tetradenia*, modificando o nome para *Tetradenia riparia* (CODD, 1983).

A produção de óleos essenciais nas plantas está geralmente associada à presença de glândulas secretoras especializadas, tais como tricomas glandulares, ductos de óleo e resinas que contém grande quantidade de terpenos, considerados os sítios primários de acúmulo desse material, em algumas espécies (MARTINS et al., 2008).

Martins et al. 2008, através de um estudo de histoquímica e atividade bacteriana, observou que as folhas de *Tetradenia riparia* são dorsiventrais, anfiestomáticas, sendo comum a ocorrência de grandes câmaras subestomáticas na face abaxial. A epiderme é unisseriada, com células irregulares, sendo as células da face adaxial maiores que as células epidérmicas da face abaxial, envolvida por cutícula e portadora de tricomas glandulares e não glandulares. Foram observadas muitas drusas no parênquima clorofiliano, principalmente entre as células do parênquima paliçádico. O mesofilo apresenta o parênquima paliçádico bisseriado e o parênquima lacunoso, consta de aproximadamente três camadas de células irregulares. As folhas de *Tetradenia riparia* são simples, membranáceas, pilosas, elípticas com lóbulos de ápice agudo. Sistema de nervura pinada com venação reticulada poligonal regular.

Os tricomas glandulares são capitados e peltados. Os glandulares capitados são multicelulares, unisseriados, com uma célula basal, uma célula colar e com uma ou duas células apicais de forma ovoide, apresentando secreção densa, sendo que o tricoma de cabeça unicelular pode representar um estágio de desenvolvimento do tricoma com duas células apicais, os quais estão incrustados em cavidades tanto na epiderme adaxial, como na abaxial. Há também abundantes tricomas capitados com duas células basais epidérmicas, uma longa célula peduncular unisseriada, uma célula colar curta e com uma célula apical de forma globoide contendo a secreção (MARTINS et al., 2008).

Foi observada a presença de longos tricomas tectores unisseriados, localizados principalmente nas regiões das nervuras maiores. Há também tricomas peltados inseridos principalmente na face abaxial da epiderme, constituídos por duas células basais epidérmicas, uma célula peduncular curta de parede espessa, uma célula colar e por um conjunto de células apicais secretoras, formadas por quatro a oito células, recobertas por cutícula (MARTINS et al., 2008).

A região da nervura principal apresenta leve proeminência na superfície adaxial e forte proeminência na abaxial. Possui colênquima angular nas duas faces, adaxial e abaxial, sendo o parênquima fundamental formado por células isodiamétricas. O sistema vascular é do tipo colateral não contínuo, separado por células de parênquima (MARTINS et al., 2008).

Há trabalhos com *Tetradenia riparia* que relatam substâncias isoladas das folhas, como ibozol e 8 (14), 15- sandaracopimaradieno - 2 α , 18-diol diterpenóides (VAN PUYELDE et al., 1987); umuravumbolida e diacetilboronolida α - pironas, 1',2'- dideacetilboronolida (J- pirona), sitosterol, stigmasterol e campesterol (esteróis) (VAN PUYELDE et al., 1986). Seu óleo essencial contém aproximadamente, 200 componentes. Os diterpenóides apresentam atividade antimicrobiana, antiespasmódica e antitricomonas, sendo ainda inibidor do crescimento de raízes de trigo (VAN DUNKEL et al., 1990).

Figura 1: Aspecto geral da parte aérea da planta *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd.



2.2. PLANTAS MEDICINAIS E METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A finalidade do uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos para a recuperação da saúde é uma prática generalizada, sendo o resultado do acúmulo secular de conhecimentos empíricos sobre a ação dos vegetais por diversos grupos étnicos. Por diversas vezes, o uso desses recursos é estimulado de maneira pouco criteriosa, contudo os conhecimentos empíricos acumulados no passado (tradição cultural) e os científicos desenvolvidos, ao longo do tempo, principalmente com a condução de ensaios clínicos randomizados, mostram que as plantas medicinais e os medicamentos fitoterápicos têm ação terapêutica (ALEXANDRE et al., 2005).

As plantas medicinais têm sido à base dos principais recursos para a saúde desde a antiguidade, endossada pelos dados da Organização Mundial de Saúde, de que 80% da população mundial utilizam estas plantas ou preparações destas no que se refere à atenção primária de saúde. O reconhecimento de seu valor como recurso clínico, farmacêutico e econômico tem crescido progressivamente em vários países, os quais vêm normatizando e legislando acerca dos diferentes critérios de segurança, eficácia e qualidade que deve envolver esses produtos. Resultado da inserção da fitoterapia na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares do SUS, pactuada pela Comissão Tripartite pela Portaria nº 971 de 05/ 2006 (BRASIL, 2006).

A saúde, entendida como direito do cidadão e dever do Estado, leva todos os profissionais da área de saúde a refletir sobre as ações e ferramentas que possam ser usadas com vistas à promoção e manutenção da saúde primária e, conseqüentemente, uma melhor qualidade de vida. Ainda, considera-se que cada vez mais se têm voltado os olhos à busca das plantas medicinais e/ou seus derivados como agentes terapêuticos naturais. O estímulo ao uso destes fitoterápicos tem como objetivo: prevenir, curar ou minimizar os sintomas das doenças, com um custo mais acessível à população e aos serviços públicos de saúde, comparativamente àqueles obtidos por síntese química (TOLEDO et al., 2003).

A fitoterapia constitui uma forma de terapia medicinal que vem crescendo notadamente nestes últimos anos, ao ponto que atualmente o mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de aproximadamente 22 bilhões de dólares. Enquanto o mercado mundial de medicamentos químicos cresce 4% ao ano, o mercado fitoterápico cresce até 15% ao ano. Acredita-se que hoje 25% de todas as prescrições mundiais são de fitoterápicos. Essas razões para o crescimento desta cultura passam cada vez mais a ter aceitação do mercado consumidor (FILHO et al., 2001).

Os fitoativos são componentes químicos que conferem às plantas medicinais, atividade terapêutica e são provenientes do metabolismo secundário das plantas (ROPERTO e OKA, 2000). Podem ser divididos em três grupos quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Os metabólitos secundários são compostos químicos evolutivamente selecionados para conferir vantagens adaptativas às plantas. Essas substâncias participam diretamente das interações bioquímicas de convivência e comunicação entre as plantas e os vários organismos vivos no sistema ambiental. Ao longo do processo evolutivo as plantas desenvolveram mecanismos de defesa para sua sobrevivência. Dentre as formas de proteção adquiridas, foram desenvolvidas rotas biossintéticas — hoje conhecidas como metabolismo secundário —

para produção de substâncias nocivas e tóxicas aos inúmeros parasitas e predadores (SALISBURY e ROSS, 1992).

Em princípio, chegou-se a acreditar que esses compostos oriundos de rotas alternativas eram apenas simples resíduos do metabolismo. Entretanto, sabe-se atualmente que as principais funções dos produtos do metabolismo secundário são: atuar como agentes de defesa para combate de organismos patogênicos, insetos fitófagos e herbívoros predadores; e atuar como agentes de competição para modificação do comportamento germinativo e do crescimento de espécies vegetais estranhas. A capacidade estimulatória de tais compostos também é destacada, já que podem servir como atraentes de animais polinizadores e dispersores de sementes, promovendo assim a perpetuação de uma dada espécie. Taninos, alcalóides, terpenos, esteróides, flavonóides, cumarinas, xantonas, lignanas, fenilpropanóides, acetofenonas, cromanos, quinonas, derivados do ácido benzóico e da acetofenona são classes representativas de metabólitos secundários de plantas (SCHEUERMANN e JUNIOR, 2005).

Os estudos fitoquímicos compreendem as etapas de isolamento, elucidação estrutural e identificação dos constituintes mais importantes do vegetal, principalmente de substâncias originárias do metabolismo secundário, responsáveis, ou não, pela ação biológica. Esses conhecimentos permitem identificar a espécie vegetal, conjuntamente com ensaios de atividade biológica, analisar e caracterizar frações ou substâncias bioativas. Ressalta-se ainda a importância para o desenvolvimento de fitoterápicos no estabelecimento de marcadores químicos, que são indispensáveis para o planejamento e monitoramento das ações de transformação tecnológicas aliado a estudos de estabilidade dos produtos intermediário e final. Para isso, o conhecimento da estrutura química tem especial relevância no caso de substâncias facilmente degradáveis por fatores tais como luz, calor e solventes, atrelados ao processo tecnológico (TOLEDO et al., 2003).

No cultivo de espécies medicinais, diversas condições ambientais podem contribuir para maximizar a produção de princípios ativos, mas com comprometimento da produção de fitomassa, na maioria das vezes. Dentre os fatores que podem ocasionar essas variações, a luz e a nutrição das plantas estão entre os mais importantes. A disponibilidade de luz é um dos fatores que mais afeta o desenvolvimento vegetal (MARTINS et al., 1994).

2.2.1 Fatores que influenciam a produção de metabólitos secundários

Os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais (KUTCHAN, 2001).

Os principais fatores que podem coordenar ou alterar a taxa de produção de metabólitos secundários incluem sazonalidade, ritmo circadiano e desenvolvimento, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos ou ataque por patógenos. Deve ser enfatizado, porém, que os estudos sobre influência destes fatores na produção de metabólitos secundários geralmente têm se limitado a um grupo restrito de espécies, predominantemente ocorrentes em regiões temperadas, muitas das quais são comercialmente importantes e podem ter sofrido fortes pressões seletivas antrópicas visando certas características desejadas. Seu comportamento, portanto, nem sempre é representativo de plantas selvagens ou de outros tipos de habitat (GLOBBO-NETO e LOPES, 2007).

A época em que uma droga é coletada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano (GLOBBO-NETO e LOPES, 2007). Os casos mais frequentemente relatados envolvem plantas e/ ou metabólitos empregados na terapêutica, podendo ser citados como exemplo, as folhas de *Digitalis obscura* L., que apresentam as menores concentrações de cardenolídeos, como o lanatosídeo na primavera e uma fase de rápido acúmulo no verão, seguida por uma fase de decréscimo no outono (ROCA-PÉREZ et al., 2004). As concentrações de hipericina e pseudo-hipericina na erva de São João (*Hypericum perforatum* L., utilizada no tratamento de depressões leves a moderadas) aumentam de cerca de 100 ppm no inverno para mais de 3000 ppm no verão (SOUTHWELL e BOURKE, 2001).

A idade e o desenvolvimento da planta também são de considerável importância e podem influenciar a quantidade total de metabólitos produzidos e as proporções relativas dos componentes da mistura. É o caso, por exemplo, das lactonas sesquiterpênicas produzidas em *Arnica Montana* L., consideradas os principais princípios ativos desta planta utilizada como antiinflamatória; enquanto plantas jovens acumulam majoritariamente derivados da helenalina, a concentração destes compostos é reduzida para praticamente zero após aproximadamente seis semanas contadas a partir da formação das folhas; por outro lado, os níveis de compostos do tipo diidrohelenalina aumentam muito e então se mantêm constantes por um longo período (SCHMIDT et al., 1998).

A faixa em que ocorrem as variações anuais, mensais e diárias na temperatura é um dos fatores que exerce maior influência no desenvolvimento da planta, afetando, portanto, a produção de metabólitos secundários. As baixas temperaturas têm influências significantes nos níveis de metabólitos secundários. É relatada, por exemplo, uma correlação positiva entre a intensidade e a duração do frio imposto a mudas de milho (*Zea mays* L.) e a abundância de antocianinas e mRNA para as enzimas chaves da via fenilpropanoídica, tais como PAL (fenilalanina-amônia-liase) e chalcona sintase (CHRISTIE et al., 1994).

Fatores fisiológicos críticos, tais como fotossíntese, comportamento estomático, mobilização de reservas, expansão foliar e crescimento, podem ser alterados por estresse hídrico e, conseqüentemente, levar a alterações no metabolismo secundário (BAZAAZ et al., 1987). Exemplos da influência do índice pluviométrico na produção de metabólitos secundários pode ser observado na correlação positiva de alguns dos componentes do óleo essencial de *Santolina rosmarinifolia* L. e a correlação negativa entre a produção de saponinas, como a lemmatoxina em *Phytolacca dodecandra* L'Hér, com os níveis de precipitação (NDAMBA et al., 1993).

As diferentes espécies de plantas estão adaptadas a uma enorme variação na intensidade e qualidade de incidência luminosa. Além disso, existe uma crescente preocupação com os efeitos do aumento de radiação ultravioleta (UV-B, 280–320 nm), decorrente da depleção da camada de ozônio. Existe uma correlação positiva bem estabelecida entre intensidade de radiação solar e produção de compostos fenólicos, tais como flavonóides, taninos e antocianinas (PARÉ et al., 1997). Isso pode ser explicado, principalmente no caso de flavonóides e fenilpropanóides correlatos, pela proteção contra a foto-destruição proporcionada por estes metabólitos ao absorver e/ou dissipar a energia solar, dificultando assim a danificação dos tecidos mais internos pela radiação UV-B (GRACE et al., 2000).

Estudos mostram que a intensidade de luz é um fator que também influencia a concentração e/ou composição de outras classes de metabólitos secundários, como terpenóides, glicosídeos cianogênicos e alcalóides (HIRATA et al., 1993). Foi demonstrado, por exemplo, que no manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e no tomilho (*Thymus vulgaris* L.), duas plantas utilizadas na medicina popular e como condimentos, o completo desenvolvimento de tricomas glandulares, onde os óleos essenciais são armazenados, é luz-dependente (LETCHAMO et al., 1994).

Observa-se que a deficiência nutricional usualmente resulta em aumento nas concentrações de metabólitos secundários, exceto no caso da deficiência de nitrogênio e enxofre, em que a produção de metabólitos secundários contendo estes elementos é

diminuída. A produção global de metabólitos nitrogenados por uma planta (alcalóides, glicosídeos cianogênicos e glucosinolatos) geralmente é aumentada com a maior disponibilidade de nitrogênio no solo. Entretanto, como consequência do aumento da biomassa da planta, a concentração destes nos tecidos pode diminuir. Além disso, existem evidências de que não é somente a disponibilidade ambiental de nitrogênio em si que influencia o metabolismo secundário, mas sim a quantidade deste que é incorporada aos tecidos da planta (HOFT et al., 1996). Há pouca informação disponível sobre o impacto de micronutrientes na produção de metabólitos secundários em plantas. Foi mostrado, por exemplo, que o fornecimento de manganês e molibdênio, através do borrifamento das folhas com soluções de sais destes elementos, durante o desenvolvimento de *Digitalis grandiflora* Mill (dedaleira) leva a um aumento de mais de duas vezes no conteúdo de heterosídeos cardioativos (LETCHAMO, 1986).

A altitude também exerce efeitos sobre o desenvolvimento e a produção de metabólitos secundários em plantas, apesar de existirem relativamente poucos estudos neste sentido. A correlação positiva geralmente existente entre o conteúdo total de flavonoides e a altitude, por exemplo, é de particular interesse farmacêutico, uma vez que estes são constituintes ativos de um grande número de plantas medicinais. Esta correlação pode ser explicada pela maior susceptibilidade à radiação UV em altitudes maiores, uma vez que os flavonoides são reconhecidos por propiciarem proteção à radiação e seus efeitos (VEIT et al., 1996).

Os poucos trabalhos sobre alterações no metabolismo secundário decorrentes de poluição atmosférica são, de modo geral, bastante limitados e voltados principalmente para as consequências de níveis elevados de O₃ ou de CO₂ no metabolismo de derivados fenólicos. A fumigação das folhas de soja (*Glycine max* L. (Merrill) com O₃ (de 0,25 a 1 µL L⁻¹ por 3 h), paralelamente aos danos foliares, levou a um maior acúmulo dos isoflavonoides cumestrol, daidzeína e sojagol; NO₂⁻ e SO₂⁻ também causaram um acúmulo, porém bem menor, destes isoflavonoides (KEEN et al., 1975).

2.2.2. Produção de óleo essencial e luz

Os óleos essenciais constituem uma classe de metabólitos secundários muito importantes. São extraídos de plantas através da técnica de arraste a vapor, na grande maioria das vezes, e também pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos, que no Brasil dominam o mercado de exportação. São compostos principalmente de monoterpenos, sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas (BIZZO,

2009). São considerados um dos mais importantes sob o ponto de vista econômico, embora de significância para apenas 0,1 % das plantas, são líquidos, evaporam sem deixar resíduos, possuem peso específico menor que a água, são insolúveis em água e geralmente incolores, podendo apresentar outras colorações, como amarelados e azulados (ROPERTO e OKA, 2000).

Constituem os elementos voláteis contidos em muitos órgãos vegetais, e, estão relacionados com diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal, exercendo papel fundamental na defesa contra microrganismos (SIQUI et al., 2000). Ainda, tem sido estabelecido que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas (BHAVANANI e BALLOU, 1992).

A luz influencia diretamente o crescimento e o desenvolvimento das plantas, causando alterações morfofisiológicas e, indiretamente, o teor e composição de metabólitos especiais, como os óleos essenciais (VALIO, 2001; VILELA e RAVETTA, 2000). De forma geral, estima-se que a luz branca influencia a expressão de 20% do genoma em plântulas de arroz e *Arabidopsis* (JIAO et al., 2005).

A PAL- fenilalanina amonialiase, uma das enzimas mais estudadas no metabolismo secundário, está situada em um ponto de ramificação entre os metabolismos primário e secundário, de forma que a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos, que incluem os fenilpropanoides. A atividade da PAL é aumentada por fatores ambientais, tais como baixos níveis de nutrientes, luz (pelo seu efeito fitocromo) e infecção por fungos (TAIZ e ZEIGER, 2004).

De acordo com Kouki e Manetas (2002), a disponibilidade de recursos também promove efeitos regulatórios na atividade de enzimas chaves da rota biossintética de metabólitos secundários. Janas et al. (2000) ressaltam que a atividade da fenilalanina amonialiase e o acúmulo de fenólicos ocorrem como consequência de estresses bióticos, como infecção por microrganismos, ataque de insetos e herbívoro (Rivero et al., 2001) e estresses abióticos como a luz (Lavola et al., 2000).

A intensidade luminosa, o fotoperíodo, a temperatura e a nutrição do solo podem influenciar diretamente na produção do óleo, ou indiretamente, através do aumento de biomassa das plantas de espécies produtoras de óleos essenciais (LIMA et al., 2003, RODRIGUES et al., 2004, VALMORBIDA et al., 2006).

A disponibilidade de luz para as plantas pode interferir no seu desenvolvimento vegetativo. Espécies podem ser agrupadas em dois grandes grupos: pioneiras (heliófitas) que requerem radiação solar direta para a germinação e o crescimento satisfatório de suas

plântulas, e clímax (umbrófilas), que são tolerantes ao sombreamento inicial, podendo germinar, sobreviver e desenvolver-se sob dossel fechado, com pouca luz (RAMOS et al., 2004).

Uma iluminação satisfatória influencia na síntese de óleo essencial. Um local pouco iluminado pode ser suficiente para o crescimento das folhas, mas com poucos princípios ativos (RIVAS, 2003). Como forma de adaptação às condições adversas, as plantas têm como estratégia se adaptar a diversas condições luminosas e a essa adaptação dá-se o nome de plasticidade. Essa plasticidade estrutural está associada a uma função compensatória das folhas de sombra à diminuição proporcional da fotossíntese e à diminuição da intensidade luminosa, visto que tais folhas aproveitam melhor a luminosidade, em comparação com aquelas não adaptadas a esse fator (LARCHER, 2000).

Segundo Pinto et al. (2007), cada espécie responde de maneira distinta ao sombreamento. A variabilidade genética e o tipo de fotossíntese detêm forte influência sobre tal produtividade (TAIZ e ZEIGER, 2009). A adaptação das plantas às condições climáticas submetidas também influencia na quantidade do princípio ativo de interesse (PINTO et al., 2007).

Diferentes espécies medicinais têm sido estudadas com a finalidade de determinar a iluminação satisfatória para maximizar o rendimento do ponto de vista da produção de óleo essencial.(SIMÕES et al., 2007).

A luz pode influenciar os níveis e a composição do óleo essencial, dependendo da espécie. Li et al. (1996), trabalhando com tomilho (*Thymus vulgaris* L.), observaram que o teor de óleo essencial foi mais alto em plantas cultivadas a pleno sol. Plantas de erva-cidreira (*Lippia Alba* (Mill) N. E. Brown) submetidas a um nível maior de irradiância (pleno sol) tiveram elevação no teor de óleo essencial (VENTRELA e MING, 2000). Ainda pode ocorrer de espécies terem o percentual de produção de óleo essencial aumentado quando cultivadas em condições de sombreamento, como *Plectranthus neochilus* Schlechter (ROSAL, 2008).

Peer et al. (1999), estudando erva boa- *Satureja douglasii* (Benth.) Briq., Lamiaceae, verificaram a presença de muitos monoterpenos em folhas e estes apresentaram diferenças em sua composição, em decorrência dos níveis de radiação, como exemplo a isomentona. Em tomilho (*T. vulgaris*), a composição do óleo essencial foi afetada significativamente por níveis de radiação. Houve mudanças no conteúdo de fenóis, e em particular, no conteúdo de hidrocarbonetos monoterpênicos do óleo essencial, devido às diferenças em intensidades luminosas. O maior nível de timol foi obtido em maior intensidade luminosa (LETCHAMO et

al., 1994). Mudas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miquel apresentou o maior teor de óleo essencial em plantas com 30% e sombreamento (MATTANA et al., 2010).

2.3. PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES

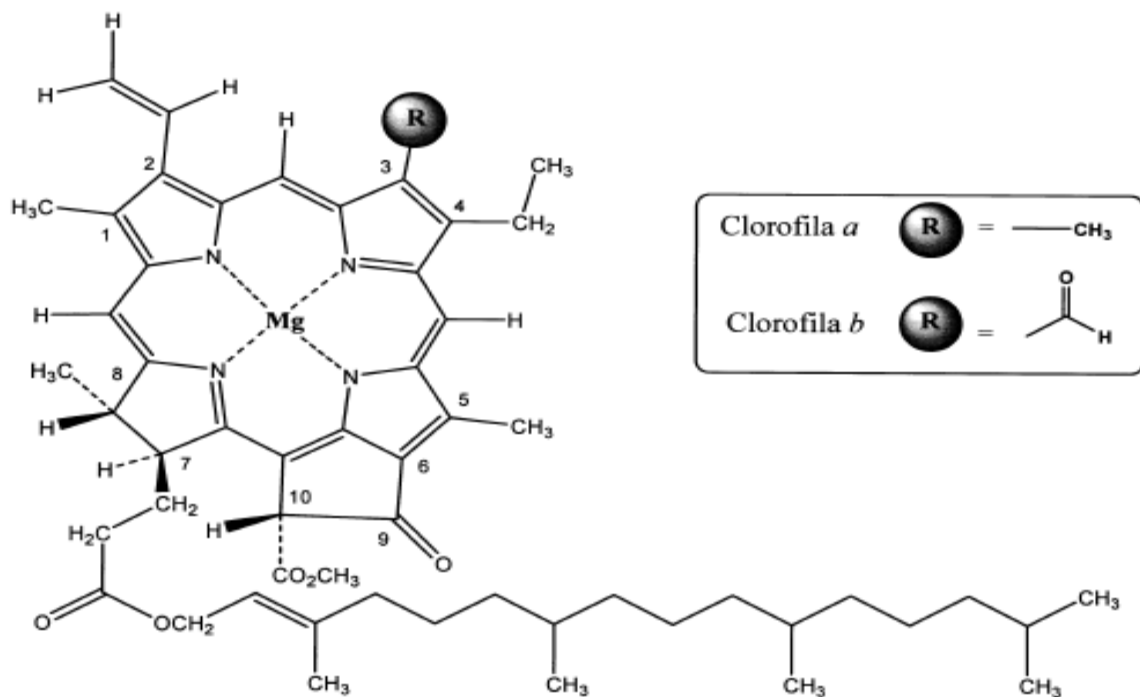
A fotossíntese corresponde ao processo pelo qual, ocorre síntese de açúcares, através da luz. As células do mesófilo possuem cloroplastos, que contêm pigmentos verdes especializados na absorção de luz, as clorofilas. Em suma, durante a fotossíntese, a planta utiliza energia solar para oxidar a água, liberando conseqüentemente oxigênio, e para reduzir o dióxido de carbono, assim produzindo grandes compostos carbonados (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Além das clorofilas, existem também os carotenoides, que são pigmentos presentes nos vegetais, capazes de absorver a radiação visível, desencadeando as reações fotoquímicas da fotossíntese, processo essencial para a sobrevivência vegetal. A qualidade espectral é fator importantíssimo para a fotossíntese. O tipo e a quantidade de carotenoides dentro do aparato fotossintético dependem da qualidade e quantidade de luz. Conforme o pigmento, diferente é a faixa espectral absorvida para desencadear o processo fotossintético, à exemplo da clorofila *a* tem absorção máxima na faixa do azul e vermelho, onde está o espectro de ação para a fotossíntese (MACMAHOM et al., 1991).

As clorofilas são moléculas formadas por complexos derivados da porfirina, tendo como átomo central o Mg (magnésio). Esse composto é uma estrutura macrocíclica assimétrica totalmente insaturada constituída por quatro anéis de pirrol. Esses anéis numeram-se de 1 a 4 ou de “a” a “d”, de acordo com o sistema de numeração de Fisher. As clorofilas *a* e *b* encontram-se na natureza numa proporção de 3:1, respectivamente, e diferem nos substituintes de carbono C-3. Na clorofila *a*, o anel de porfirina contém um grupo metil (-CH₃) no C-3 e a clorofila *b* (considerada um pigmento acessório) contém um grupo aldeído (-CHO), que substitui o grupo metil-CH₃. A estabilidade da clorofila *b* deve-se ao efeito atrativo de elétrons de seu grupo aldeído no C-3 (SCHOEFS, 2002). A clorofila *b* é sintetizada através da oxidação do grupo metil da clorofila *a* para um grupo aldeído. No entanto, muitos estudos têm sido realizados para elucidar a biossíntese da clorofila *b*, mas as rotas para a formação da clorofila *b* ou das proteínas envolvidas ainda não foram completamente elucidadas. A clorofila *a* é convertida em clorofila *b* através de uma enzima chamada clorofila *a* oxigenase, que catalisa a conversão do grupo metil ao grupo aldeído (TANAKA et al., 1998).

As clorofilas localizam-se nos cloroplastos, sendo esta organela o continente da fotossíntese, isto é, onde ocorrem as duas reações importantes: a fotoquímica, nas membranas dos tilacóides e a bioquímica, no estroma do cloroplasto. Tais organelas, além das clorofilas, contêm outros pigmentos chamados acessórios, como os carotenoides (carotenos e xantofilas). As ligações entre as moléculas de clorofilas são muito frágeis (não-covalentes), rompendo-se com facilidade ao macerar o tecido em solventes orgânicos. O caráter hidrofílico/hidrofóbico de uma substância influi diretamente na escolha do melhor solvente para a sua extração. Os solventes polares como a acetona, o metanol, o etanol, o acetato de etila, a piridina e a dimetilformamida são os mais eficazes para a extração completa das clorofilas. Os solventes apolares como o hexano e o éter de petróleo são os menos eficazes. No caso das clorofilas *a* e *b*, o aumento da polaridade da clorofila *b* em relação à clorofila *a* deve-se ao substituinte aldeído (MUSSI, 2003).

Figura 2: Estrutura química da clorofila *a* e clorofila *b*.



Fonte: Streit et al., 2005.

Carotenoides são pigmentos lipossolúveis, amarelos, laranjas e vermelhos, presentes em muitas frutas e vegetais. Em plantas superiores, estão localizados em organelas

subcelulares (cloroplastos e cromoplastos). Nos cloroplastos encontram-se associados principalmente à proteínas e são, normalmente, mascarados pela presença de outros pigmentos clorofílicos dominantes. Atuam como pigmentos fotoprotetores na fotossíntese e como estabilizadores de membranas. Nos cromoplastos, eles são depositados na forma cristalina (ex. tomates e cenouras) ou como gotículas de óleo (ex. manga e páprica) (KURZ et al., 2008).

Os carotenoides são biossintetizados principalmente por algas, plantas, bactérias, fungos e os animais devem obtê-los desses alimentos. O contéudo de carotenoides nas frutas e vegetais depende de vários fatores como: variedade genética, estádio de maturacao, armazenamento pós-colheita, processamento e preparo (CAPECKA et al., 2005).

Do ponto de vista químico, carotenoides são compostos polisoprenoides e podem ser divididos em dois grandes grupos: (a) carotenos ou carotenoides hidrocarbonos: compostos apenas de carbono e hidrogenio (ex. α e β -caroteno e licopeno) e (b) xantofilas: que são derivados oxigenados dos carotenos e contem pelo menos uma funcao hidroxí, ceto, epóxi, metoxi ou ácido carboxílico (ex. luteína, zeaxantina e astaxantina) (QUIRÓS e COSTA, 2006).

A característica estrutural comum dos carotenoides é a cadeia polieno, um longo sistema de ligacao dupla conjugada, que forma a “espinha dorsal” da molécula e influencia suas propriedades químicas, físicas e bioquímicas. Esta cadeia pode apresentar grupos terminais cíclicos, que apresentam substituintes contendo oxigenio. O sistema conjugado e rico em elétrons do polieno é responsável pela atividade antioxidante dos carotenoides: tanto na absorcao do oxigenio singlet quanto de radicais livres, para interromper as reações em cadeia onde eles estão envolvidos (QUIRÓS e COSTA, 2006).

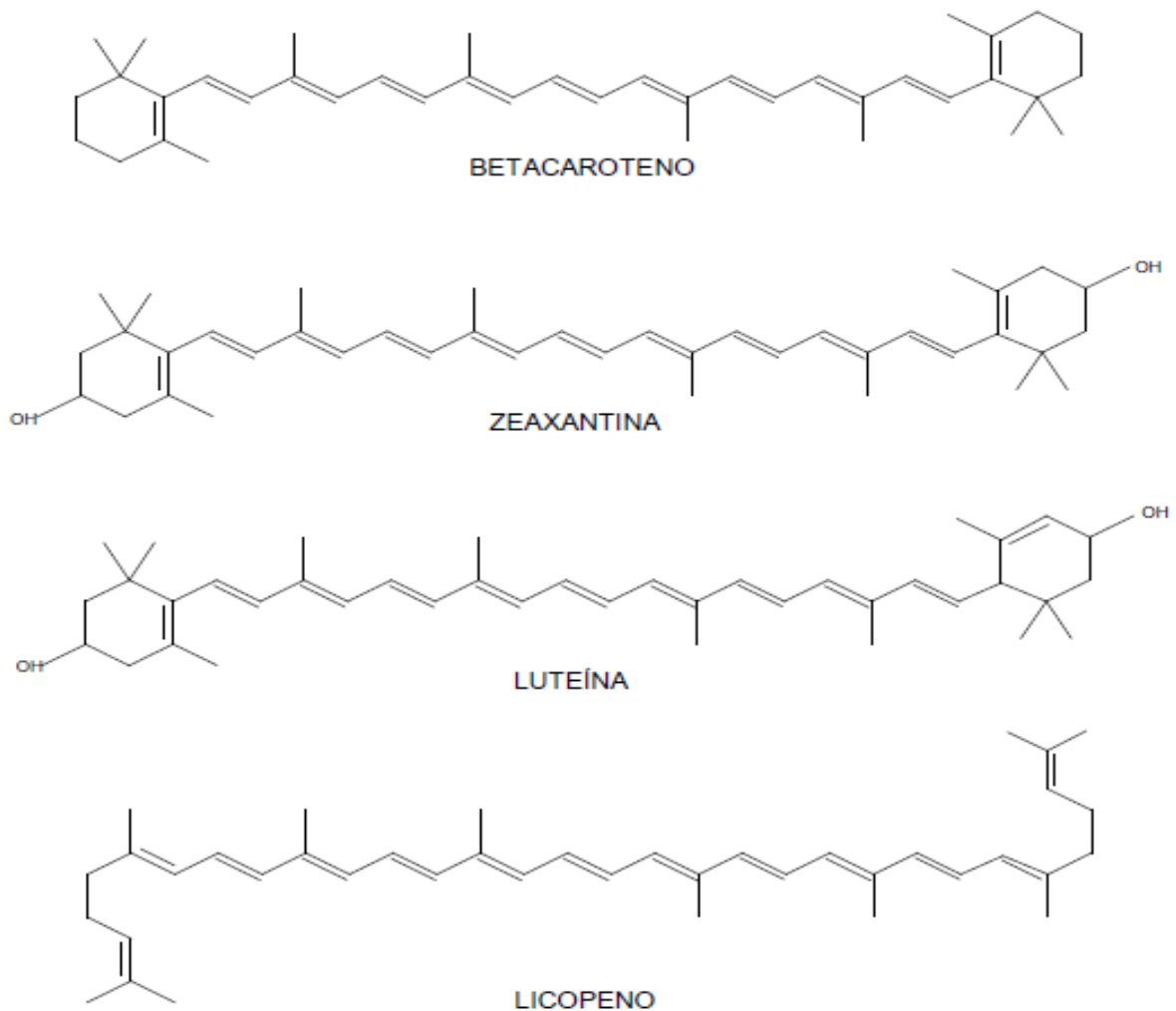
O β -caroteno é o carotenoide que possui maior atividade de provitamina A e é encontrado em diversos vegetais como cenoura, abóbora, manga e mamão. Há uma significativa associacao entre baixas concentrações de β -caroteno no plasma e aumento da incidência de infarto do miocárdio. Uma dieta rica em β -caroteno já foi associada ao menor risco de morte prematura devido às doenças coronarianas (BELLIZZI et al., 1994).

Luteína e zeaxantina são xantofilas resultantes do processo de hidroxilacao de α -caroteno e β -caroteno, respectivamente, que possuem atividade de provitamina A. Durante a maturacao dos frutos, a conversão a luteína e zeaxantina provocam uma diminucao nos níveis de α -caroteno e β -caroteno. Estudos epidemiológicos e clínicos mostraram que baixa ingestão ou baixa concentracao desses carotenoides no plasma está associada com a degeneracao macular. Os benefícios desses dois carotenoides em humanos não param na saúde dos olhos.

Estudos recentes sugerem que eles podem manter a saúde do coração por reduzirem os riscos de doenças cardiovasculares e protegem a pele dos danos causados por radiação UV (SANTOCONO et al., 2007).

Licopeno é um isômero acíclico do β -caroteno, com atividade de pró-vitamina A, que está presente em muitas frutas e vegetais. Devido ao grande número de ligações dienos conjugadas, o licopeno é um dos mais potentes absorvedores de oxigênio singlete entre os carotenoides naturais e funciona como um antioxidante muito potente. Além disso, ele é capaz de reduzir a mutagênese e, em concentrações fisiológicas, pode inibir o crescimento de células humanas cancerígenas, especialmente em câncer de próstata, sem evidência de efeitos tóxicos ou apoptose celular. Uma das fontes vegetais mais ricas em licopeno é o tomate (SCOLASTICI et al., 2007).

Figura 3: Estruturas moleculares de carotenoides encontrados nos vegetais.



Fonte: Silva et al., 2010.

Geralmente há uma extensa diversidade de respostas das plantas à intensidade luminosa (SCALON e ALVARENGA, 1993).

Segundo alguns autores os parâmetros morfológicos e fisiológicos mais utilizados para verificar a qualidade de mudas de espécies arbóreas submetidas a diferentes níveis de sombreamentos são altura da planta, massa seca total, relação clorofila *a/b*, conteúdo de clorofila total e carotenoide total (CHAVES e PAIVA, 2004).

A energia absorvida pelos pigmentos é transferida para sítios bem definidos, localizados sobre as membranas tilacoides, os chamados centros de reação. Há dois centros de reação, um deles absorvendo em 680nm e outro em 700nm, os quais interagem entre si através de transportadores de elétrons. É a partir da molécula de clorofila, a qual absorve em 680nm no espectro visível, que os elétrons oriundos da água são transferidos para a cadeia transportadora de elétrons da fotossíntese (KLUGE, 2004).

As plantas utilizam-se da radiação fotossinteticamente ativa (RFA ou PAR) que está compreendida entre 390 e 760nm (a chamada luz visível). Cada molécula de clorofila pode absorver apenas 1 quantum de energia de cada vez, o que causa excitação de um determinado elétron de um dos átomos da molécula. Os elétrons que estão em orbitais no estado estável do átomo recebem a energia e podem se deslocar para orbitais mais distantes do núcleo, a uma distância que é proporcional à energia de um fóton que absorveu. A molécula do pigmento encontra-se, então, no estado excitado, e é esta energia de excitação que é usada na fotossíntese. As clorofilas e outros pigmentos permanecem no estado excitado por períodos muito curtos e a energia é perdida por calor ou por fluorescência (ROMANO, 2001).

O ambiente de luz em que a planta cresce é de fundamental importância, pois a adaptação das plantas a este ambiente depende do ajuste de seu sistema fotossintético, de modo que a luminosidade ambiental seja utilizada de maneira mais eficiente possível. As respostas destas adaptações serão refletidas no crescimento global da planta. As plantas que crescem em ambientes com muita luz têm frequentemente características estruturais e químicas que reduzem a quantidade de luz que alcança o cloroplasto. As reações de luz são componentes eficientes do sistema bioquímico. Nestas reações, até 20% da luz absorvida pode ser convertida em energia utilizável, ATP (ENGEL e POGGIANI, 1991).

Para inferir a contribuição de diferentes processos fisiológicos nos vegetais, análises morfológicas são simples e precisas, sendo útil no estudo de variações entre plantas sob diferentes condições de luminosidade. Como as alterações na disponibilidade de radiação solar em um ambiente podem influenciar também a quantidade de clorofila total, assim como

a fração de clorofila *a* em relação à clorofila *b* (WHATLEY e WHATLEY, 1982) e carotenoides (DEMMIG-ADAMS, 2006), é importante a determinação dos teores de pigmentos fotossintéticos quando se quer fazer inferência à ação da luminosidade sobre caracteres fisiológicos em plantas (LIMA et al., 2011).

2.4. LUZ E ANÁLISE DE LIPÍDIOS, NITROGÊNIO, PROTEÍNAS E CINZAS

Folhas expostas a luz plena podem apresentar diferentes respostas de crescimento, diferente daquela encontrada em folhas de sombra. Folhas de sol normalmente acumulam maiores proporções de lipídios, amido solúvel e hidratos de carbono. Foi relatado que a quantidade de proteínas encontrado em folhas de sol foi maior do que em folhas de sombra, enquanto que folhas de sombra continham aminoácidos mais solúveis (MELETIOU-CHRISTOU et al., 1994).

Em decorrência do ciclo anual das espécies é evidente que a degradação de amido, açúcares solúveis, nitrogênio, lipídios, cinzas são dependentes das condições climáticas, incluindo diferentes níveis de luminosidade (MELETIOU-CHRISTOU et al., 1994).

2.5. LUZ E MORFOLOGIA FOLIAR

A luz é um fator ambiental de fundamental importância para as plantas devido à ação direta ou indireta na regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal. As adaptações sofridas pelas plantas na maquinaria fotossintética em resposta às condições de luminosidade ambiental podem alterar de forma significativa o desenvolvimento vegetal (ENGEL e POGGIANI, 1991). A luz influencia a anatomia foliar tanto nos primeiros estádios de desenvolvimento quanto na fase adulta, pois a folha é um órgão bastante plástico e a 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, qualidade e quantidade da luz (BOARDMAN, 1977). Apesar da confirmação dos efeitos da qualidade espectral sobre as plantas, as respostas são muito variáveis em função das espécies. Portanto, a utilização efetiva de filtros espectrais como reguladores do crescimento de plantas depende do conhecimento de quais faixas do espectro estão envolvidas nas respostas de crescimento de cada planta (MCMAHON e KELLY, 1995).

A radiação solar é um fator fundamental ao crescimento e desenvolvimento vegetal, seja através de processos fotomorfogênicos ou fotossintéticos (LARCHER, 2000). A

adaptação da estrutura interna das folhas, no período de crescimento, aos diferentes níveis de luz do ambiente é considerada uma plasticidade adaptativa comum a espécies que apresentam amplo potencial de aclimação (WHATLEY e WHATLEY, 1982). Essa plasticidade estrutural está associada a uma função compensatória de folhas adaptadas à sombra, à diminuição proporcional da fotossíntese e à diminuição da intensidade luminosa, visto que tais folhas aproveitam melhor a luminosidade, em comparação com aquelas não adaptadas a esse fator (LARCHER, 2000).

A qualidade espectral pode afetar estruturas anatômicas das folhas, parecendo exercer maiores efeitos durante a expansão foliar, fazendo com que as plantas exibam um alto grau de plasticidade fisiológica e anatômica para mudanças na qualidade de luz (SCHUERGER et al., 1997). Associadas às funções que as folhas desempenham na planta, estes órgãos exibem variações apreciáveis na sua estrutura para manter a funcionalidade e, assim, melhorar a adaptabilidade das plantas aos diferentes ambientes.

Além das modificações que ocorrem nos tecidos fotossintetizantes do mesófilo, diversos trabalhos mostram diferenças nos níveis de intensidade luminosa influenciando mudanças significativas na densidade estomática, número e tamanho das células epidérmicas, número de tricomas, tamanho dos espaços intercelulares e esclerificação de tecidos (NERY et al., 2007). Dentre esses fatores, os estômatos apresentam grande importância em estudos anatômicos, envolvendo diferentes ambientes e níveis de radiação, uma vez que o aumento da frequência estomática em folhas expostas a elevada irradiância pode ser um mecanismo importante de adaptação das espécies a uma condição estressante (ABRAMS e MOSTOLLER, 1995).

Informações sobre as variações da morfologia foliar das espécies medicinais consorciadas em diferentes condições de luminosidade podem contribuir para o delineamento de métodos de cultivo de acordo com a exigência de luz de cada espécie. Deste modo, as características morfológicas representam do ponto de vista produtivo, um fator importante tanto na safra que se pretende obter quanto na qualidade da droga vegetal fabricada a partir da matéria prima cultivada (ESPINDOLA JÚNIOR et al., 2009).

Alguns estudos têm evidenciado a plasticidade fisiológica de espécies vegetais em relação à radiação fotossinteticamente ativa disponível por meio de avaliações de crescimento inicial em relação a diferentes níveis de sombreamento (ALMEIDA et al., 2004). Segundo Paiva et al. (2003), mudas de cafeeiro crescendo sob um sombreamento de 50% apresentam um maior crescimento vegetativo em relação às mudas formadas em sombreamentos de 30% e 90 % e em pleno sol. Para a espécie arbórea pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link.),

verificou-se que o tratamento de 30% de sombreamento mostrou-se o mais indicado para o crescimento inicial dessas plantas (ATROCH et al., 2001).

A adaptação das plantas ao ambiente de luz depende do ajuste de seu aparelho fotossintético, de modo que a luminosidade ambiental seja utilizada de maneira mais eficiente possível, sendo, as respostas dessa adaptação refletidas no crescimento global da planta. Assim, a eficiência do crescimento pode estar relacionada com a habilidade de adaptação das plântulas e as condições de intensidade luminosa do ambiente; frequentemente as análises do crescimento são utilizadas para indicar o grau de tolerância das diferentes espécies ao sombreamento (FANTI e PEREZ, 2003).

Várias características são utilizadas para avaliar as respostas de crescimento de plantas à intensidade luminosa. Entre essas, a área foliar é uma característica para se analisar a tolerância à sombra das diferentes espécies, pois ela correlaciona-se diretamente com a área da superfície fotossintetizante útil (ENGEL, 1989).

3. JUSTIFICATIVA

Tendo em vista a importância de estudos referente ao cultivo de espécies com potencial medicinal e a influência da luz sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas, este trabalho é importante ao conhecimento de condições luminosas para o cultivo de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd, popularmente conhecida como incenso, haja vista a escassez de estudos para esta espécie quanto à radiação. Assim, este estudo possibilitará conhecer a influência de diferentes condições de luminosidade sobre aspectos morfofisiológicos e de produção e composição de óleo essencial, o qual é fundamental à importância da espécie como planta medicinal.

Nesse sentido este trabalho contribuirá no âmbito tecnológico à melhoria nas técnicas de cultivo que favoreçam a exploração quantitativa e qualitativa de óleos essenciais assim como no âmbito científico quanto à ampliação de conhecimentos na área de fotomorfogênese e a possível obtenção de moléculas protótipos para a síntese de fármacos.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

Estudar características morfofisiológicas, produção e composição de óleo essencial das folhas de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento.

4.2 Específicos

- a) Avaliar a influência dos diferentes níveis de sombreamento sobre a área foliar, tamanho dos estômatos, densidade estomática, densidade de tricomas e espessura do mesofilo em *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd.
- b) Observar o efeito dos diferentes níveis de sombreamento sobre a relação teor de clorofilas, carotenoides e análises de composição centesimal das folhas de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd.
- c) Analisar o efeito dos diferentes níveis de sombreamento sobre a produção e composição de óleo essencial das folhas em *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd.

5- METODOLOGIA

5.1. Material vegetal e condução dos experimentos

As mudas de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd foram obtidas no Horto de Plantas Medicinais da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Goiás-EMATER-GO, propagadas por estaquia e cultivadas nas proximidades do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. Após o estabelecimento de três folhas maduras, as mudas foram cultivadas em mini-casas de vegetação completamente cobertas com telas de polietileno pretas produzidas para proporcionar diferentes níveis de sombreamento, 30%, 50% e 80% e também a pleno sol, constituindo os tratamentos.

Vinte mudas por tratamento foram cultivadas em janeiro de 2013 em sacos plásticos com capacidade de 3 litros, utilizando-se substrato comercial de terra escura e regadas diariamente. Aos 30 dias e aos 60 dias de cultivo o substrato foi suplementado com 5 g de NPK 4-14-8.

O experimento foi desenvolvido entre os meses de janeiro a julho do ano de 2013 sob as condições climáticas deste período para região de Goiânia (Gráfico 1, Gráfico 2 e Gráfico 3). Foi utilizado um porômetro LI-1600 para quantificar o percentual de radiação incidente no interior das mini-casas de vegetação onde as plantas foram cultivadas, na altura da copa das plantas, em relação ao ambiente externo em horário de alta intensidade luminosa ao meio dia. A tela desenhada para prover 30% de sombreamento estava retendo 38% da radiação fotossinteticamente ativa; a de 50% estava retendo 45%; a de 80% estava retendo 68%.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado.

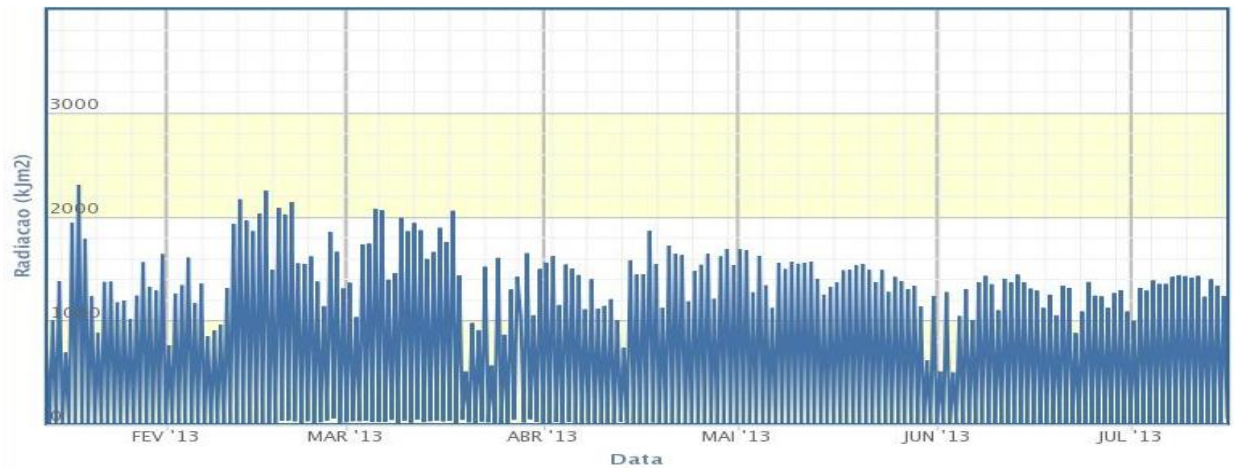


Gráfico 1: Radiação na região de Goiânia nos meses de janeiro a julho de 2013. **Fonte:** <http://www.inmet.gov.br/porta1>. Acesso em: 17 jan. 2014.



Gráfico 2: Temperatura na região de Goiânia nos meses de janeiro a julho de 2013. **Fonte:** <http://www.inmet.gov.br/porta1/>. Acesso em: 17 jan. 2014.



Gráfico 3: Umidade na região de Goiânia nos meses de janeiro a julho de 2013. **Fonte:** <http://www.inmet.gov.br/porta1/>. Acesso em: 17 jan. 2014.

5.2. Extração e análise da composição de óleo essencial

A extração do óleo essencial das folhas de *Tetradenia riparia* foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás. Foi realizada duplicata para cada tratamento, a partir de 45g de massa fresca, em plantas no estágio vegetativo a 150 dias de tratamento, coletadas às sete horas da manhã, pelo método de hidrodestilação por arraste de vapor d'água, utilizando-se aparelho Clevenger modificado, adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade de 1.000 mL. Em cada repetição utilizou-se 500mL de água destilada. O hidrolato foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 25mL de diclorometano, por 20min cada. As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com uma porção de sulfato de magnésio anidro. O sal foi removido por filtração simples e o solvente, evaporado à temperatura ambiente em capela de exaustão até alcançar peso constante, obtendo, assim o óleo essencial purificado. Os resultados do rendimento óleo essencial foram expressos em porcentagem de óleo essencial (%) em relação à massa fresca. Foram retiradas as alíquotas, cerca de 1 a 2 gotas por tratamento para identificação dos compostos e estas armazenadas em frascos âmbar no freezer para posterior análise.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A identificação dos compostos do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Química Orgânica da Faculdade de Química da Universidade Federal de Goiás. Foi utilizado um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM) (Shimadzu QP5050) equipado com coluna capilar (CBP-5; 30 cm x 0,25 mm x 0,25 μ m), fluxo de 1,0 mL.min⁻¹ de Hélio e a programação da temperatura inicial foi realizada a 60° Celsius (2 minutos); com primeira rampa de aquecimento a 3° Celsius/minutos até 240° Celsius, em seguida o aquecimento foi de 10° Celsius/minutos até 280° Celsius, mantendo essa temperatura por 10 minutos. Os compostos foram identificados por base de dados computadorizada, usando biblioteca digital de dados de espectro de massas NIST11/2011/EPA/NIH e por comparação com seus índices de retenção e espectros de massa autênticos de Adams (2007).

Os índices de retenção foram calculados através da coinjeção de uma mistura de hidrocarbonetos C8-C-32 da marca Sigma-Aldrich e a utilização da equação de Van Den Dool e Kratz (1963). A composição química do óleo essencial foi apresentada em forma de tabela, com a porcentagem relativa das substâncias obtida por normalização de área.

5.3. Análises morfológicas

Foi coletada uma folha do quinto nó abaixo do ápice de cinco plantas de cada tratamento, aos 150 dias após a exposição aos tratamentos experimentais. As análises foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. As folhas foram fixadas em solução FAA 70 (formol, ácido acético e álcool etílico) por 24 horas e posteriormente conservadas em solução de etanol a 70%. Foram preparadas lâminas semipermanentes da região mediana do limbo foliar, a partir de seções transversais feitas à mão livre e com a ajuda de micrótomo. As análises foram realizadas em cinco plantas por tratamento, sendo montada para análise quatro lâminas de cada planta, perfazendo um total de vinte amostras analisadas por tratamento. Os cortes obtidos foram submetidos à coloração com fucsina e azul de astra (KRAUS e ARDUIN, 1997). Utilizando fotomicroscópio LEICA DM 500 acoplado a computador com software para medição foi avaliado a espessura do limbo.

Para melhor visualização dos tricomas, da epiderme e estômatos foi realizado o processo de diafanização nas amostras da região mediana das folhas. Foi coletada uma folha do quinto nó de cinco plantas tomadas ao acaso de cada tratamento. As amostras da região mediana das folhas foram conservadas em etanol 70% e posteriormente processadas seguindo procedimento adaptado de Johansen (1940): primeiramente foi adicionado a solução de NaOH 10% por 3h, após lavagem em água destilada por três vezes, foi adicionada solução de hipoclorito de sódio a 2% até clarear e cloral hidratada ($\text{CCl}_3\text{CHO}\cdot\text{H}_2\text{O}$) 10% até o material ficar totalmente translúcido. O material foi lavado com água destilada por 5 vezes e corado com safranina (por aproximadamente 24h) e montado entre lâmina e lamínula em gelatina glicerinada.

Para contagens de estômatos e tricomas, cinco plantas por tratamento foram utilizadas, sendo montada duas lâminas por planta, perfazendo um total de dez amostras analisadas por tratamento. As medições foram realizadas em microscópio Zeiss MC 80, com o auxílio de uma câmara clara, segundo Labouriau et al. 1961.

Para área foliar foram utilizadas 3 plantas por tratamento e foram coletadas folhas do primeiro ao quinto nó com 150 dias de tratamento, medida por meio de medidor de área foliar modelo LI-COR-3000.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5.4. Análise de lipídios, nitrogênio total, proteínas totais e cinzas

As análises foram realizadas no Laboratório de Físico-química da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás e no Departamento de Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Folhas do quinto ao décimo nó com 120 dias tratamento foram coletadas e colocadas na estufa a 105° para secagem. Para todas as análises foram realizadas triplicatas para cada tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade. Todos os dados estão expressos em composição centesimal.

5.4.1. Teor de gordura (extrato etéreo e/ou lipídios)

Realizado segundo o método de extração por Soxhlet, descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (2008), tendo sido utilizados três gramas de material foliar pulverizado, empregando-se éter de petróleo como solvente.

5.4.2. Teor de nitrogênio total e proteínas totais

Realizado utilizando-se a metodologia de Kjeldahl (1883). Para o teor de proteínas totais utilizaram-se os valores obtidos para nitrogênio e multiplicou-se pelo fator de conversão 6,25 (Association of Official and Agricultural Chemistry, AOAC, 1970). O procedimento está descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (2008), o qual se divide em três etapas:

- Digestão: adicionou-se em um tubo de vidro 1 grama de amostra, 7 pérolas de vidro, 1 pastilha catalisadora e 12mL de ácido sulfúrico concentrado e conectou-se ao equipamento de digestão (400°C/120min, até a amostra clarificar).
- Destilação: adicionou-se ao tubo 75mL de água destilada e conectou-se ao destilador. O destilado foi coletado (até 150mL) em um erlenmeyer contendo 25mL de solução receptora de ácido bórico 4% . O composto obtido possui coloração verde.
- Titulação: Realizada com ácido clorídrico 0,1N até a solução atingir coloração rosa.

5.4.3. Cinzas

O teor de cinzas foi determinado de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (2008), utilizando-se 3 gramas de amostra, sendo o material carbonizado em aquecedor elétrico (VELP SCIENTIFICA) e incinerado em mufla a 550°C por um período de aproximadamente 7 horas.

5.5. Quantificação de clorofilas e carotenoides

A extração e quantificação das clorofilas, *a*, *b*, total e carotenoides foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. Foram utilizadas três plantas por tratamento e de cada planta foram coletadas cinco folhas do quinto ao oitavo nó às 7 horas da manhã, de plantas com 120 dias de tratamento experimental. Foram feitas análises em triplicata de cada tratamento. A partir de 1g de matéria fresca oriunda do terço médio foliar, cada amostra foi homogeneizada em 50 mL de acetona 80%, seguida de três leituras de cada amostra em espectrofotômetro (Beckman, modelo 640 B) nos comprimentos de onda 645 e 663 para clorofilas e 470 nm para carotenoides. Todo o procedimento foi realizado em ambiente sem luminosidade para evitar a degradação de pigmentos. Os teores de clorofila e carotenoides foram expressos em mg.g⁻¹ MF, e calculados de acordo com as equações de Arnon (1949), para clorofilas e Lichtenthaler (1987), para carotenoides, conforme segue:

$$\text{Clorofila } a = (12,7.A_{663} - 2,69.A_{645}) / 1000MS).V$$

$$\text{Clorofila } b = (22,9.A_{645} - 4,68.A_{663}) / 1000MS).V$$

$$\text{Razão clorofila } a/b = \text{clorofila } a/b$$

$$\text{Clorofila Total} = (20,2.A_{663} + 2,69.A_{645}) / 1000MS).V$$

$$\text{Carotenóides} = (1000.A_{470}) - (1,82.Clor.a) - (85,02.Clor.b) - (198).V$$

Em que: A₄₇₀ = absorbância a 470 nm; A₆₆₃ = absorbância a 663 nm; A₆₄₅ = absorbância a 645 nm; V = volume da amostra (mL); MF = massa fresca da amostra (g). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6- RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Características morfológicas

6.1.1. Área foliar e espessura do limbo

Para o tratamento de 80% de sombreamento observou-se maior área foliar, seguido pelo tratamento de 50% de sombreamento. Os tratamentos com 30% de sombreamento e a pleno sol foram os que apresentaram menor área foliar não diferindo significativamente (Tabela 1).

A espessura do limbo nas folhas de *Tetradenia riparia* foi maior nas plantas cultivadas ao tratamento pleno sol. Nos demais tratamentos, 30%, 50% e 80% de sombreamento, houve redução da espessura do limbo e não se observaram diferenças significativas entre esses tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1: Área foliar (cm²) e espessura do limbo (µm) de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento.

Níveis de sombreamento	Características morfológicas	
	Área foliar (cm ²)	Espessura do limbo (µm)
Pleno sol	7, 22 c ± 0,37	379,41 a ± 0,25
30%	7, 86 c ± 0,42	340,11 b ± 0,14
50%	10, 84 b ± 0,24	339,35 b ± 0,24
80%	13, 05 a ± 0,29	348,29 b ± 0,10

Média de três plantas por tratamento para análise de área foliar. Média de vinte amostras por tratamento para análise de espessura do limbo. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, $p \leq 0,05$. As médias estão seguidas pelo percentual do coeficiente de variação.

O aumento em área foliar com o sombreamento, como observado neste trabalho (Tabela 1) é uma das adaptações que permite ao vegetal aumentar rapidamente a superfície fotossintetizante e assegurar um aproveitamento maior das baixas intensidades luminosas (PEDROSO e VARELA, 1995).

Uma característica marcante de folhas de sombra quando comparadas às folhas de sol é uma maior área foliar seguida de redução na espessura do parênquima paliçádico e esponjoso (HOFLACHER e BAUER, 1982; TERASHIMA et al., 2001), tal qual observado para a espessura do limbo foliar neste estudo (Tabela 1). Esses parênquimas apresentam

grande capacidade de respostas aos estímulos de radiação luminosa, influenciando a espessura do limbo foliar. O aumento da espessura do limbo foliar nas condições de pleno sol ocorre em função de modificações no padrão de expansão de células do mesofilo, alongando-se, ou do aumento do número de camada de células do parênquima paliçádico no intuito de otimização da captação e distribuição da luz nos tecidos do mesofilo (KIM et al., 2005; TERASHIMA et al., 2001).

Diferentes espécies têm sido observadas com comportamento similar ao encontrado neste estudo para área foliar. Em mudas de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) a área foliar das mudas foi negativamente influenciada pela exposição a pleno sol, sendo a área foliar de 147,63 cm², registrada no tratamento com 0% de sombreamento, significativamente menor das obtidas nos tratamentos com maior nível de sombreamento (ZANELLA et al., 2011). Em um estudo com feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), a área foliar foi significativamente afetada pelo sombreamento, onde as plantas submetidas ao ambiente artificialmente sombreado apresentaram em média 32% a mais de área foliar do que às plantas cultivadas no ambiente normal (SANTOS et al., 2001). Resultados similares foram relatados por Lázaro et al. (2009) em plantas de estilosantes submetidas a restrição luminosa de 30% e 50%; Martuscello et al. (2009) em plantas de *Brachiaria* com intensidade de sombreamento de até 70% e Lacerda et al. (2010) com plantas de milho e feijão em ambiente protegido.

Em mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) cultivadas a pleno sol e a 30% e 50% de sombreamento embora não tenha sido detectada diferença significativa entre os tratamentos luminosos, a área foliar nas mudas cultivadas em pleno sol, apresentaram valores 23 e 63% superiores aos das mudas cultivadas sob 50% de sombreamento (SCALON et al., 2003) O aumento da área foliar nos seis primeiros meses de desenvolvimento da planta mostra a habilidade da espécie em utilizar a radiação fotossinteticamente ativa e a consequente produção de fotoassimilados (DIAS-FILHO, 1997). Assim, a área foliar pode ser considerada um índice de produtividade, dada à importância dos órgãos fotossintetizantes na produção biológica (SCALON et al., 2003).

As mudanças ocorridas neste trabalho (Tabela 1) na área foliar e espessura do limbo foliar são as principais características consideradas indicadoras de taxa de crescimento dos vegetais e os ajustes dessas características podem ser consideradas estratégias desenvolvidas para maximizar a eficiência do uso dos diferentes recursos pelas plantas como, por exemplo, a luz (VENDRAMINI et al., 2002).

Assim como observado neste trabalho (Tabela 1), folhas produzidas sob condições de alta luminosidade tendem a ser menores e mais espessas, e geralmente isso se deve ao aumento de mesofilo por unidade de área, menor quantidade de espaços intercelulares no mesofilo, maior densidade de estômatos e de nervuras, quando comparadas a folhas expostas ao sombreamento. Essas variações estruturais são associadas com a regulação da difusão luminosa e gasosa dentro da folha, maximizando a eficiência fotossintética (TERASHIMA et al., 2006).

Outros estudos também demonstram o aumento da espessura do limbo quando as plantas são submetidas a altas condições de luminosidade, corroborando com os resultados encontrados neste estudo. Castro et al. (2007), trabalhando com *Mikania glomerata* Sprengel e Lima Júnior et al. (2006), trabalhando com *Cupania vernalis* Camb., observaram médias da espessura total do limbo foliar em plantas cultivadas em pleno sol maiores, quando comparadas aos tratamentos sombreados. Voltan et al. (1992), trabalhando com cinco cultivares de cafeeiro observaram redução da espessura do limbo foliar com o aumento dos níveis de sombreamento. Outros autores também confirmam redução da espessura do limbo foliar em espécies cultivadas sob condições de sombreamento, como Sims e Pearsy (1992), trabalhando com *Alocasia macrorrhiza*, Lee et al. (2000), em um estudo feito com com duas espécies de *Hopea*, Field et al. 2001, com *Amborella trichopoda* e Morais et al. (2004), trabalhando com *Coffea arabica*.

O decréscimo na espessura do limbo foliar de plantas cultivadas em níveis mais elevados de sombreamento pode ocorrer em virtude da diferença na distribuição de fotoassimilados (SERT, 1992).

Embora a lâmina foliar sendo a estrutura que mais se modifica em resposta as alterações ambientais, Nery et al. (2007), trabalhando com *Calophyllum brasiliense* Cambess., uma espécie conhecida como guanandi, não observaram diferença na espessura total do limbo entre os diferentes níveis de sombreamento estudados, pleno sol, 30%, 50% e 70% de sombreamento, diferentemente do que se observou neste trabalho (Tabela 1), o que indica que plasticidade fenotípica para espessura do limbo, além da radiação, também depende da espécie em questão.

6.1.2. Densidade de estômatos e tricomas

Não se observaram diferenças para a densidade de estômatos na epiderme abaxial e tricomas na epiderme das faces abaxial e adaxial nas plantas de *Tetradenia riparia* cultivada nos diferentes níveis de sombreamento. Já a densidade de estômatos da epiderme adaxial diferiu entre os tratamentos, observando-se maior densidade nas plantas cultivadas com 30% de sombreamento (Tabela 2).

Tabela 2: Densidade de estômatos e tricomas (n° mm²) de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento

Níveis de sombreamento	Estômatos e tricomas			
	Estômatos		Tricomas	
	Epiderme abaxial	Epiderme adaxial	Epiderme abaxial	Epiderme adaxial
Pleno sol	171 a ± 0,33	41 b ± 1,11	150 a ± 0,65	53 a ± 0,35
30%	159 a ± 0,47	87 a ± 1,08	95 a ± 0,80	53 a ± 0,35
50%	182 a ± 0,31	22 c ± 2,5	95 a ± 0,59	83 a ± 0,68
80%	163 a ± 0,46	30 b ± 3,75	117 a ± 0,96	64 a ± 0,88

Média de cinco plantas por tratamento. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, $p \leq 0,05$. As médias estão seguidas pelo percentual do coeficiente de variação.

Quantidade, distribuição, tamanho, forma e mobilidade dos estômatos são características específicas de cada espécie e podem se alterar em função das adaptações às condições ambientais (LARCHER, 2000).

Embora não tenha sido observado neste trabalho alterações bem distintas, como um todo, quanto a densidade estomática e de tricomas, elas são importantes para um maior controle na termorregulação das plantas pela influência da densidade estomática na transpiração, ao mesmo tempo em que a densidade de tricomas interfere na redução da temperatura pela reflexão luminosa ou mesmo interfere na transpiração pelo microclima mais úmido que se forma na camada limítrofe da folha quando da maior densidade de tricomas (LARCHER, 2004). A presença de tricomas tectores ou glandulares na superfície foliar pode ter inúmeras funções como proteger a folha da radiação excessiva em ambientes mais luminosos, auxiliar na manutenção da temperatura foliar, evitar a perda de água ou oferecer

resistência a patógenos. Em ambientes mais sombreados, pode auxiliar na reflexão da radiação solar para o interior das células do mesofilo (SILVA et al., 2005).

Diferentemente do que foi encontrada neste trabalho (Tabela 2), a densidade estomática mais elevada em condições de pleno sol corresponde a uma característica de muitas espécies quando estudadas nas condições de sol e sombra, como citam Espindola Junior et al. (2009), trabalhando com *Mikania glomerata* Spreng., Voltan et al. (1992), em um trabalho realizado com cinco cultivares de café (*Coffea arabica* L.), Nery et al. (2007), com *Calophyllum brasiliense* Cambess., Lima Júnior et al. (2006), em estudo feito com *Cupania vernalis* Camb., Santiago et al. (2001), trabalhando com *Piper hispidinervium* C.DC.

Assim como neste trabalho, diferenças não significativas para o parâmetro densidade estomática foi observado em um estudo feito com folhas de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidas em câmara de crescimento com diferentes níveis de radiação, luz alta (90W.m^2) e luz baixa (10W.m^2), em que as plantas não apresentaram diferenças na densidade estomática nos diferentes tratamentos (LICHTENTALER et al., 1981).

Gomes et al. (2009), também observou que a densidade de tricomas não foi influenciada pelas diferentes intensidades de luz, resultado similar a este trabalho (Tabela 2) em um estudo feito com *Lippia citriodora* Lam, o número de tricomas glandulares, nos diferentes tratamentos em que as plantas foram submetidas, pleno sol, 70% de luz e 50% de luz, não apresentaram diferenças significativas entre si.

Em um estudo realizado com *Mikania glomerata* Spreng., diferentemente do que se observou neste trabalho (Tabela 2), a densidade de tricomas na face abaxial apresentou-se maior nas plantas submetidas ao tratamento pleno sol, favorecido portanto, pela incidência luminosa (SILVA et al., 2005).

6.2. Óleos essenciais

6.2.1. Produção dos óleos essenciais

Observaram-se diferenças no rendimento de óleo essencial de *Tetradenia riparia* cultivada em diferentes níveis de sombreamento (Tabela 3). Os tratamentos com 30% e 50% de sombreamento foram os que apresentaram maior rendimento de óleo essencial, 0,26% e 0,23% respectivamente, seguido pelo tratamento a pleno sol. O tratamento em que houve menor rendimento de óleo essencial foi o de 80%.

Tabela 3: Percentual de rendimento de óleo essencial de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento.

Pleno sol	Níveis de sombreamento		
	30%	50%	80%
0,18 b ± 0,04	0,26 a ± 0,08	0,23 a ± 0,07	0,09 c ± 0,05

Dados de avaliação realizada em duplicata. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, $p \leq 0,05$. As médias estão seguidas pelo percentual do coeficiente de variação.

A produção de óleo essencial é proporcionalmente relacionada à capacidade metabólica da planta submetida às condições ideais de intensidade e qualidade da radiação (MEIRA et al., 2012) e é muito variável de acordo com a espécie. Aumento no teor de óleo essencial quando as plantas foram cultivadas à sombra, em relação ao pleno sol, assim como observado neste trabalho (Tabela 3) foi encontrado em um estudo realizado com *Pothomorphe umbellata* (L.) Miquel quando submetidas a três níveis de sombreamento, correspondente a 30, 50 e 70% e a pleno sol, que apresentou o maior teor de óleo essencial em plantas com 30% e sombreamento no ponto da segunda colheita (MATTANA et al., 2010). A produção de óleo essencial normalmente está associada com maior irradiância e taxa fotossintética superior, mas altos níveis de irradiância em plantas esciófitas, como é o caso de *Pothomorphe umbellata*, geralmente causam necrose e clorose com a fotodegradação de pigmentos, levando a uma redução da fotossíntese e um baixo rendimento de biomassa (MATTANA et al., 2010).

Em um estudo realizado com *Melissa officinalis* L., conhecida popularmente melissa, as mudas obtidas por estaquia, após enraizamento foram submetidas em quatro níveis de radiação fotossinteticamente ativa (RFA), sendo: luz plena (testemunha) e sombreamento progressivo com tela tipo sombrite (sombreamento de 75, 50 e 25%). O rendimento de óleo essencial apresentado pelos tratamentos 25 e 50% de sombreamento (0,48 e 0,40%) foram superior ao esperado, pois de acordo com Sarer e Kôkdil (1991) os percentuais variam entre 0,06 a 0,375%, para esta espécie. Entretanto a produção de óleo é proporcionalmente relacionada à capacidade metabólica da planta submetida a condições ideais de sombreamento. Os tratamentos a 25% e 50% de sombreamento apresentaram a maior

produção de teor de óleo essencial, em comparação com o tratamento de 75%, que sofreu redução significativa (MEIRA et al., 2012), comportamento similar ao que ocorreu neste estudo (Tabela 3), no qual houve redução no teor de óleo essencial quando do sombreamento a 80%, em relação aos níveis de 30 e 50%.

Rivas (2003) observou que a síntese e acúmulo de óleo essencial podem ocorrer em sombreamento e alta iluminação, porém nos tratamentos com sombreamento as folhas ficam maiores, mas com menor concentração de óleo, assim como observado com as folhas das plantas crescidas no tratamento com 80% de sombreamento (Tabelas 1 e 3). Pegoraro (2007) observou que no sombreamento em hortelã pimenta os tratamentos com maior intensidade luminosa não interferiram no rendimento de óleo por tricomas. No entanto, a área foliar por planta aumentou com maior intensidade luminosa, assim é possível supor que o rendimento de óleo por planta seja aumentado em virtude do aumento do número de tricomas por planta.

Embora neste trabalho não tenha sido observado uma relação positiva correspondente ao aumento na densidade de tricomas e aumento no teor de óleos essenciais (Tabelas 2 e 3), essa relação pode ser comprovada para algumas espécies, como citam Gershenzon et al. (2000), em que trabalhando com *Mentha x piperita*, observaram que o principal fator no rendimento de óleos essenciais nesta espécie está relacionado com a presença de tricomas glandulares, mostrando que quanto maior a densidade de tricomas, maior o rendimento de óleo essencial. No entanto é válido salientar que embora não tenha sido observada alteração na densidade de tricomas entre os diferentes tratamentos (Tabela 2), naqueles em que houve maior rendimento de óleo essencial foliar (30 e 50%), (Tabela 3), a área foliar das plantas era maior que aquelas do tratamento a pleno sol (Tabela 1).

Algumas espécies, diferentemente do que foi observado neste estudo (Tabela 3) têm maior produção de óleo essencial quando expostas a alta incidência luminosa comparativamente àquelas cultivadas à sombra. Gomes et al. (2009), ao trabalharem com *Lippia citriodora* Lam, observaram que os tratamentos em pleno sol e com 30% de sombreamento apresentaram maiores teores de óleo essencial, 0,16% e 0,11%, respectivamente, em relação aos demais tratamentos, 50% e 75% de sombreamento. Infere-se que o aumento no teor de óleo pode estar relacionado ao aumento no número de tricomas glandulares na epiderme, na qual é produzido pela ativação das rotas do metabolismo secundário de algumas espécies quando exposta a alta intensidade luminosa (PINTO et al., 2007). Em um outro estudo realizado com mudas de *Lippia sidoides* Cham, conhecida popularmente como alecrim-pimenta, submetidas a quatro de níveis de radiação fotossinteticamente ativa que correspondeu à luz plena e telas de sombreamento de 75%, 50%

e 25%, observou-se que a produção de óleo e seu teor à luz plena foram significativamente superiores aos demais tratamentos. Estas mesmas variáveis produção e teor de óleo essencial decresceram significativamente com o sombreamento. O número de inflorescências é um bom indicativo do máximo teor de óleo e, portanto, do ponto de colheita mais apropriado, sendo superior sob 25% de sombreamento, embora não diferisse significativamente do tratamento com 75% de sombreamento. O resultado sugere novas investigações no sentido de definir o papel do florescimento na produção de óleo essencial na espécie (SOUZA et al., 2007).

Em algumas espécies não são observadas variações na produção de óleo essencial quando da sua exposição a diferentes condições de luminosidade. *Aloysia gratissima* (Gillies e Hook) Tronc. (Verbenaceae), conhecida popularmente como alfazema-do-Brasil, foram submetidas a três níveis de sombreamento (pleno sol, 40% e 80%), protegidas com malha termorefletora, que controla a passagem da luz fotossinteticamente ativa. Não houve efeito significativo do sombreamento sobre o teor do óleo essencial de alfazema-do-Brasil. As plantas crescidas com 80% de sombreamento, mesmo com menor espessura do limbo e menor massa seca das folhas, apresentaram um teor de óleo essencial semelhante aos outros tratamentos, mostrando uma proteção das estruturas produtoras do óleo, talvez relacionada à maior espessura da epiderme abaxial e ao alto teor de tricomas nessa epiderme. Com relação ao rendimento de óleo essencial, observou-se um incremento significativo de 2,81 e 3,31 vezes no rendimento de plantas crescidas a pleno sol e a 40% de sombreamento, respectivamente (PINTO et al., 2007).

Diferentemente do que ocorreu com espécie investigada neste estudo, a qual responde positivamente à produção de óleo de óleo essencial por unidade de massa fresca com o aumento do nível de sombreamento até 50% (Tabela 3), mudas de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (Lamiaceae) foram cultivadas em substrato adubado a pleno sol, a 70% de luz e a 50% de luz. A intensidade de luz e a adubação não influenciaram no rendimento de óleo por tricomas ou por cm² de área foliar. A quantidade de óleo essencial por unidade de massa fresca também não foi influenciada pela intensidade de luz ou adubação do substrato. Embora, luz e nutrição não tenham afetado o rendimento do óleo essencial por unidade de massa fresca em mudas de menta, estes fatores podem afetar o rendimento do óleo por planta em detrimento do aumento na área foliar total e biomassa. Em *M. piperita* o aumento de área foliar e o aumento de biomassa foram fortemente correlacionados ($r = 0,96$), indicando que o aumento em biomassa se deu principalmente pelo aumento em biomassa de folhas (PEGORARO et al., 2010). Burbott e Loomis (1967), Mattos e Innecco (2002) e Ramos et al.

(2005) também encontraram aumento no rendimento de óleos essenciais por planta devido ao aumento em biomassa desta.

6.2.2. Composição dos óleos essenciais

A composição de óleo essencial também pode sofrer variações quando plantas são cultivadas em diferentes níveis de sombreamento. Observou-se que em todos os tratamentos o componente majoritário do óleo essencial de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd, foi o hidrocarboneto sesquiterpênico 14-hidróxi-9-epi-(E)- cariofileno, com 16,03%, 16,48%, 16,41%, 16,42% para as plantas cultivadas nos tratamentos a pleno sol, com 30%, 50% e 80% de sombreamento, respectivamente. Já nas plantas cultivadas nos tratamentos a pleno sol, com 30% de sombreamento e 50% de sombreamento também se obteve altos teores do monoterpeno fenchona, apresentando percentagem de 7,9%, 9,93% e 7,78%, respectivamente. (Tabela 4).

As propriedades convulsivas de muitos óleos voláteis são conhecidas desde a segunda metade do século XIX. Os óleos voláteis pró-convulsivantes contêm um ou vários monoterpenos oxigenados, a maioria são cetonas bicíclicas, todas muito similares na estrutura química e biossíntese. O mecanismo de ação deste efeito tóxico ainda é desconhecido, entretanto os óleos voláteis compartilham com o pentilenotetrazol a mesma ação inibitória sobre a respiração celular em fatias de cérebro de ratos, levando a perda do gradiente tecidual de Na^+ e K^+ e ao aumento significativo da excitabilidade celular. Entre os monoterpenos cuja toxicidade pode se manifestar através de crises convulsivas, estão cineol, fenchona, pinocanfona, pulegona, cânfora, tujona e sabinilacetato (BURKHARD et al., 1999).

Segundo Pontes et al. 2007, em um estudo da composição química e atividade acaricida do óleo essencial das folhas e frutos de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae) o constituinte 14-hidróxi-9-epi-(E)- cariofileno, apresentou-se como um dos componentes majoritários da folhas apresentando atividade repelente, através da revelação de propriedades de mortalidade e deterrência de oviposição na maior concentração (10 Fl.1-1 air).

A maioria dos compostos do óleo essencial de *Tetradenia riparia* não sofreu variação nos diferentes níveis de tratamento ao qual a planta foi cultivada. No entanto, compostos como o triciclono, verbeneno, α -humuleno, chamigreno e epi- α -cadinol foram encontrados apenas nas plantas de *Tetradenia riparia* cultivadas a pleno sol. γ -himachaleno e α -muuroleno foram identificados somente nas plantas cultivadas com 30% de sombreamento. Para as plantas submetidas ao tratamento com 50% de sombreamento alguns constituintes específicos

também foram encontrados como o α -pineno, β -felandreno, longifoleno, 2,4(14)-dieno-widdra e α -1,7-diepe-cedrenal e para as plantas cultivadas com 80% de sombreamento, β -selineno e α -muurolol foram encontrados somente neste tratamento (Tabela 4). Este resultado evidencia a importância da intensidade e qualidade da radiação para composição química do óleo essencial. A influência da luz, tanto sua intensidade quanto sua qualidade espectral, na composição química de óleo essencial se dá devido sua importância quanto à modulação na expressão de genes, uma vez que 20% do genoma em plântulas de arroz e *Arabidopsis* são influenciados por luz (JIAO et al., 2005).

Tabela 4: Composição química dos principais componentes do óleo essencial de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento.

Níveis de sombreamento	Componente	Índice de Kolvats (KI)	Índice de retenção (IR)	Porcentagem (%)
Pleno sol	Triciclono	926	926,04	0,91
	Canfeno	954	940,47	0,69
	Verbeneno	967	964,69	1,46
	Sabineno	975	968,91	0,66
	Limoneno	1029	1021,35	0,97
	β -(Z)-Ocimeno	1037	1028,72	0,55
	Fenchona	1086	1082,11	7,9
	Endo-Fenchol	1110	1107,65	0,86
	Cânfora	1146	1136,70	1,45
	Isoborneol	1160	1159,13	0,53
	4-ol-Terpineno	1177	1170,32	0,23
	α -Terpineol	1188	1184,08	0,35
	α -Ylangeno	1375	1369,32	0,44
	α -Gurjuneno	1409	1403,02	0,61
	(E)-Cariofileno	1419	1413,55	3,33
	α -Trans	1434	1428,68	0,46
	Bergamoteno			
	α -Humuleno	1454	1446,47	0,16
	α -Chamigreno	1503	1481,52	0,22

	α -Zingibereno	1493	1487,08	0,36
	Biociclogermacreno	1500	1490,15	1,98
	α -Amorfeno	1484	1516,16	1,14
	Epi- α -Cadinol	1640	1635,75	0,86
	B-Vulagreno	1651	1643,63	1,58
	Cubenol	1646	1651,61	2,7
	14-hidróxi-9-epi- (E)-Cariofileno	1669	1665,54	16,03
	α -14-hidróxi- Humuleno	1714	1706,05	0,35
30%	α -Tujeno	930	925,51	0,79
	Canfeno	954	939,94	0,60
	Sabineno	975	964,78	1,56
	β -Pinenol	979	969,07	0,62
	Limoneno	1029	1020,92	0,88
	β -(Z)-Ocimeno	1037	1028,30	0,48
	Fenchona	1086	1081,45	9,93
	Cânfora	1146	1136,33	1,49
	Isoborneol	1160	1158,92	0,53
	4-ol-Terpineno	1177	1170,16	0,23
	α -Terpineol	1188	1183,92	0,40
	α -Copaeno	1376	1369,23	0,40
	α -Gurjuneno	1409	1402,93	0,82
	(E)-Cariofileno	1419	1413,04	3,36
	α -Trans- Bergamoteno	1434	1428,58	0,60
	γ -Himachaleno	1482	1481,48	0,27
	Biociclogermacreno	1500	1489,02	3,02
	α -Muurolo	1500	1493,34	0,18
	α -Amorfeno	1484	1515,89	1,32
	Cubenol	1646	1635,18	0,95
	14-hidróxi-9-epi- (E)-Cariofileno	1669	1663,43	16,48

	14-hidróxi- α - Humuleno	1714	1705,19	0,31
50%	α -Pino	939	925,03	0,33
	Sabineno	975	963,51	0,92
	β -Pino	979	967,86	0,42
	Limoneno	1029	1020,48	0,75
	β -Felandreno	1029	1027,87	0,42
	Fenchona	1086	1079,87	7,78
	Endo-Fenchol	1110	1106,95	0,85
	Cânfora	1146	1136,12	1,20
	Isoborneol	1160	1158,78	0,50
	α -Terpineol	1188	1183,78	0,34
	α -Copaeno	1376	1368,87	0,42
	Longifoleno	1407	1402,46	0,94
	(E)-Cariofileno	1419	1412,12	4,02
	α -Trans- Bergamoteno	1434	1428,16	0,70
	2,4(14)-dieno- Widdra	1482	1480,84	0,25
	α -Zingibereno	1493	1486,31	0,59
	Biociclogermacreno	1500	1488,96	3,00
	δ -Cadineno	1523	1515,18	1,86
	Guaiol	1600	1595,28	0,40
	α -1,7-diepe- Cedrenal	1641	1642,18	1,68
	Cubenol	1646	1647,51	4,24
	14-hidróxi-9-epi- (E)-Cariofileno	1669	1660,06	16,41
80%	α -Tujeno	930	926,04	0,17
	Sabineno	975	964,45	0,45
	β -Pino	979	968,77	0,21
	Limoneno	1029	1021,14	0,32
	β -(Z)-Ocimeno	1037	1028,53	0,21

Fenchona	1086	1080,53	3,59
Endo-Fenchol	1110	1107,53	0,37
Cânfora	1146	1136,63	0,60
Isoborneol	1160	1159,29	0,24
α -Terpineol	1188	1184,27	0,18
α -Copaeno	1376	1369,39	0,28
α -Gurjuneno	1409	1403,02	0,78
(E)-Cariofileno	1419	1412,80	3,07
α -Trans-	1434	1428,72	0,57
Bergamoteno			
β -Selineno	1490	1481,66	0,28
α -Zengibireno	1493	1486,89	0,54
δ -Cadineno	1523	1515,79	1,15
Guaiol	1600	1595,90	0,32
Cubenol	1646	1634,97	0,80
B-Vulgareno	1651	1642,96	1,49
α -Muurolol	1646	1648,62	2,87
14-hidróxi-9-epi-	1669	1661,89	16,42
(E)-Cariofileno			
14-hidróxi- α -	1714	1704,97	0,29
Humuleno			

Em *Tetradenia riparia*, independente dos níveis de irradiação obteve-se o hidrocarboneto sesquiterpênico 14-hidróxi-9-epi-(E)-cariofileno, como um dos componentes majoritários (Tabela 4). Comportamento similar ao encontrado neste trabalho pode ser observado em um estudo realizado com plantas de *Hyptis marruboides* Epl., conhecidas popularmente como hortelã-do-campo, que foram cultivadas por quatro meses sob três tipos de ambiente, caracterizados pela disponibilidade de radiação solar incidente, controlada por tela refletora comercial a 80 e 40% de interceptação da radiação solar e em pleno sol. O componente majoritário do óleo essencial de *H. marruboides* Epl., independente dos níveis de irradiância foi o monoterpeneo oxigenado *cis*-tujona (37,78%), seguido pelos

hidrocarbonetos sesquiterpênicos (E)-cariofileno (14,93%), α -copaeno (11,03%) e σ -muuroleno (9,60%) (SALES et al., 2009).

Em plantas de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (Lamiaceae), submetidas a quatro tratamentos: plantas em substrato adubado a pleno sol, a 70% de luz, 50% de luz e plantas em substrato não adubado a pleno sol, o tamanho das manchas correspondentes ao mentol nas placas cromatográficas foi maior que a de todos os outros componentes dos óleos extraídos das folhas (PEGORARO et al., 2010). Isto sugere que o mentol é o componente majoritário dos óleos extraídos de folhas, o que concorda com os dados de Turner et al. (2000) para esta espécie, apresentando assim como ao observado neste trabalho um componente majoritário, independente dos tratamentos a que a planta foi submetida (Tabela 4). A área das manchas correspondentes ao mentol são maiores nas folhas adultas que nas jovens de plantas adubadas cultivadas a pleno sol. Este dado sugere que adubação associada à alta intensidade de luz pode aumentar a produção de mentol em folhas adultas (PEGORARO et al., 2010).

Neste trabalho (Tabela 4) não teve alteração do componente majoritário nos diferentes níveis de sombreamento a que as plantas foram submetidas. Em tomilho (*T. vulgaris*), a composição do óleo essencial foi afetada significativamente por níveis de irradiação. Houve mudanças no conteúdo de fenóis, e em particular, no conteúdo de hidrocarbonetos monoterpênicos do óleo essencial, devido às diferenças em intensidades luminosas. O maior nível de timol foi obtido em maior intensidade luminosa, situação esta contrária ao que foi observado (LETCHAMO et al., 1994; LETCHAMO e GOSSELIN, 1995).

Alguns componentes do óleo essencial de *Tetradenia riparia* sofreram variação na concentração de acordo com o tratamento a que a planta foi submetida. Para os compostos sabineno, limoneno, cânfora, isoborneol, (E)-cariofileno e α -terpineol, os teores foram inferiores nas plantas com 80% de sombreamento. Os compostos α -trans-bergamoteno e cubenol apresentaram maiores teores nas plantas de *Tetradenia riparia* cultivadas com 50% de sombreamento (Tabela 4). Comportamento similar foi observado em um estudo feito com plantas de *Hyptis marruboides* Epl, em que, entre os sesquiterpenos oxigenados não houve diferenças. A luz não exerceu influência sobre a composição química do óleo essencial. Exceção ocorreu para os compostos *iso*-3-tujanol, com teores inferiores nas plantas cultivadas a 100% de irradiância e para o composto δ -cadineno, que apresentou menores teores em plantas cultivadas a 60% de irradiância (SALES et al., 2009).

O composto fenchona, um dos componentes majoritários do óleo essencial de *Tetradenia riparia*, foi observado em maior proporção nas plantas submetidas ao tratamento com maiores intensidades luminosas, apresentando nos tratamentos a pleno sol, com 30% de

sombreamento e 50% de sombreamento, concentrações de 7,9%, 9,93% e 7,78%, respectivamente, em detrimento ao tratamento de 80% de sombreamento, em que a fenchona apresentou concentração de 3,59% (Tabela 4). Isso sugere uma maior viabilidade para produção desse composto em situações de maiores intensidades luminosas. Situação semelhante foi observada em um estudo em que mudas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miquel, pertencente à família Piperaceae e conhecida popularmente como pariparoba foram levadas para campo e submetidas a três níveis de sombreamento (30%, 50%, 70%) e a pleno sol. Na análise qualitativa do óleo essencial vinte e seis substâncias químicas foram identificadas. Entre eles, o trans-nerolidol (16,43%), que foi o constituinte majoritário, D-germacreno (13,63%), trans-cariofileno (10,29%), β -elemeno (8,70%), óxido de cariofileno (8,39%), α -selineno (7,42%) e espatulenol (6,63%) foram os principais componentes, para dar um total de 71,5% de substâncias presentes no óleo essencial. A variação da concentração da substância principal, trans-nerolidol, que é uma unidade de isopreno- fenilpropanóide- 4 nerolidilcatecol- 4NC (BERGAMO et al., 2005), é importante porque hoje em dia é um objetivo das indústrias de cosméticos, devido à sua alta atividade antioxidante fornecendo proteção contra problemas de pele induzido pela radiação solar (Ropke et al., 2003). A concentração de 4NC aumentou com a luz e foi maior em plantas cultivadas sob pleno sol. Esta informação é importante para futuros estudos sobre a produção de *P. umbellata* visando maior produção de 4-NC (MATTANA et al., 2010).

Alterações no conteúdo de óleos essenciais e no percentual de componentes químicos específicos desse óleo, tal qual observado neste trabalho, em função do nível de radiação incidente nas plantas, ou mesmo a presença de alguns compostos encontrados somente em determinado nível de radiação durante o cultivo das plantas, evidenciam a importância da luz como indutora, inibidora ou moduladora de rotas biossintéticas específicas para síntese de componentes de óleos essenciais ou outras substâncias de uso farmacológico, oriundas do metabolismo secundário das plantas. Essa resposta das plantas à diferentes padrões de radiação, embora pouco estudada e pouco explorada comercialmente, já era esperada, uma vez que vários componentes do metabolismo secundário são induzidos à síntese como prevenção ou defesa da planta a danos provocados por diferentes estresses, o qual inclui o excesso de radiação (GILL e TUTEJA, 2010; WITUSZVNSKA e KARPINSKI, 2013). Além disso, é conhecida a modulação positiva da luz vermelha e negativa da radiação vermelha distante, mediada pelo fotorreceptor fitocromo, sobre a síntese da fenilalanina amônia-liase, enzima-chave no metabolismo dos fenilpropanoides (CAMM e TOWERS, 1977; GUO e WANG, 2008; ZUCKER, 1972), componente importante dos óleos essenciais (BIZZO, 2009).

Uma vez que já é conhecido que expressão de enzimas chaves para produção de metabólitos secundários como a PAL- fenilalanina amonialiase, precursora da síntese de fenilpropanoides, pode ser influenciada por fatores ambientais como luz e que aproximadamente 20% do genoma em plântulas de arroz e *Arabidopsis* é influenciado por luz (JIAO et al., 2005), infere-se que influência da luz na modulação de expressão de genes nas plantas, além do metabolismo secundário, tenha um vasto impacto no metabolismo como um todo e no desenvolvimento vegetal.

6.3. Quantificação de clorofilas e carotenoides

Para a clorofila “a” e total observaram-se maiores valores nos tratamentos 50% e 80% de sombreamento em relação aos demais tratamentos e não foi observado variação nos teores de clorofila “b” e na razão clorofila a/b entre os tratamentos (Tabela 5).

Os teores de carotenoides foram maiores em plantas submetidas aos tratamentos de 80% e 50% de sombreamento. Os tratamentos pleno sol e 30% de sombreamento não diferiram entre si quanto à influência nos teores de carotenoides (Tabela 5).

Tabela 5: Teores de clorofila a, b, total e carotenoides (mg/g MF) de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento.

Níveis de sombreamento	Pigmentos				
	Clorofila a	Clorofila b	Razão clorofila a/b	Clorofila total	Carotenoides
Pleno sol	0, 83 b \pm 0,23	0, 25 a \pm 0,36	3, 34 a \pm 0,59	1, 37 b \pm 0,31	0, 10 b \pm 0,20
30%	0, 86 b \pm 0,05	0, 26 a \pm 0,53	3, 43 a \pm 0,41	1, 42 b \pm 0,19	0, 10 b \pm 0,10
50%	1, 18 a \pm 0,31	0, 32 a \pm 0,59	3, 94 a \pm 0,79	1, 93 a \pm 0,23	0, 11 a \pm 0,09
80%	1, 19 a \pm 0,46	0, 32 a \pm 0,31	3, 84 a \pm 0,79	1, 95 a \pm 0,44	0, 13 a \pm 0,33

Dados de avaliação realizada em triplicata. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, $p \leq 0,05$. As médias estão seguidas pelo percentual do coeficiente de variação.

Maiores teores de clorofila e carotenoides observados nas condições de sombra, como neste trabalho (Tabela 5) têm sido explicados por diferentes pesquisadores. De acordo com Engel e Poggiani (1991) um dos fatores ligados à eficiência fotossintética e conseqüentemente ao crescimento e adaptabilidade a diversos ambientes são os pigmentos foliares como as clorofilas a, b e também os carotenoides, onde as folhas de sombra apresentam maior concentração de clorofila por grama de matéria seca do que folhas expostas diretamente ao sol, assim, a combinação das clorofilas a e dos pigmentos acessórios capacitam as plantas a captarem a maior quantidade de radiação solar fotossinteticamente ativa.

Segundo Kramer e Kozlowski (1979) a clorofila é constantemente sintetizada e destruída (foto-oxidação) em presença de luz, mas sob intensidades luminosas muito altas a velocidade de decomposição é maior, sendo o equilíbrio estabelecido a uma concentração mais baixa. Assim Boardman (1977) salienta que as folhas de sombra apresentam maior concentração de clorofila (mg/g) do que folhas de sol.

Em relação à clorofila total, os tratamentos 50% e 80% apresentaram valores mais altos em relação aos tratamentos com 30% de sombreamento e a pleno sol (Tabela 5). Valores semelhantes foram encontrados em um estudo realizado com *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang. e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, que após germinação foram submetidas a quatro tipos de tratamento: sombreamento 30%, 50%, 80% e a pleno sol. A concentração de clorofila total aumentou com acréscimo do nível de sombreamento, nas duas espécies estudadas. Entretanto, entre os tratamentos 0%, 30% e 50% e entre 50% e 80% as médias para os valores de clorofila total em plantas de *H. courbaril* não diferiram entre si. Em *E. contortisiliquum*, os tratamentos 30%, 50% e 80% também não apresentaram diferenciação. Em condições adequadas de intensidade luminosa as moléculas de clorofilas estão constantemente sendo degradadas e sintetizadas, na mesma proporção. O maior acúmulo de clorofila nos níveis de maior sombreamento pode ser devido à compensação da espécie a menor quantidade de radiação disponível (LIMA et al., 2010).

Em *Eugenia uniflora* Linn, conhecida como pitanga, pertence à família Myrtaceae, as plantas submetidas a pleno e 50% de luminosidade, os teores de clorofila total foram maiores significativamente para àquelas mudas cultivadas sob 50% de sombreamento, ocorrendo queda acentuada no teor de clorofila foliar total nas plantas acondicionadas a pleno sol. Assim, o crescimento inicial de mudas de *E. uniflora*, nitidamente foi favorecido pelo nível de luminosidade plena, e as situações de sombreamento não afetaram, estatisticamente, a relação clorofila *a/b*, assim como observado neste trabalho (Tabela 5), e os teores de clorofila total

foram maiores nas mudas de sombra. (MARTINAZZO et al., 2007). Mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns (castanha-do-maranhão) submetidas ao sol pleno e 50 % de sombra apresentam maior altura, maior clorofila total e menor relação clorofila *a/b*, sob 50 % (SCALON et al., 2003).

Plantas de *Hymenaea courbaril* L. – Leguminosae conhecida como jatobá, o teor de clorofila foi maior nas mudas sob menor disponibilidade de luz (30% de luz), aumentando até os 194 dias, reduzindo em seguida, apresentado um crescimento quadrático, comportamento quanto ao conteúdo e tratamento similar ao encontrado neste trabalho, embora neste estudo não tenham sido realizadas avaliações ao longo do ciclo das plantas (Tabela 5). Nas demais condições de cultivo houve redução no conteúdo de clorofilas totais durante o crescimento das mudas (50% de luz e pleno sol) (PIEREZAN et al., 2012). Resultados semelhantes também foram observados em plantas jovens de (camboatã) *Cupania vernalis* Camb., experimento que demonstrou que os maiores valores de clorofila foram observados em plantas submetidas a 50 e 70% de sombreamento comparados com as mudas crescidas a 30% e pleno sol (LIMA JÚNIOR et al., 2006), e em (jequitibá-rosa), *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntzs submetidas aos níveis de 100, 70, 64 e 34% de luminosidade, sendo que, níveis de sombreamento mais elevados, proporcionaram maior teor de clorofila (REGO et al., 2006). Outros estudos relatam comportamento similar (BUISSON e LEE, 1993; NAKAZONO et al., 2001).

Estudos relatam redução ou aumento na razão clorofila *a/b* em plantas crescidas à sombra, sendo, portanto um comportamento peculiar à espécie estudada. Em plantas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) com 90 dias após a sementeira, o crescimento foi prejudicado sob pleno sol, sendo os níveis de sombreamento 50% e 80% os mais favoráveis. Esses autores constataram redução na razão clorofila *a/b* e um aumento dos teores de clorofila total (ZANELLA et al., 2011). Mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns (castanha-do-maranhão) submetidas ao sol pleno e 50 % de sombra apresentam maior altura, maior clorofila total e menor relação clorofila *a/b*, sob 50 % (SCALON et al., 2003). No entanto, em *Cryptocarya aschersoniana* Mez., conhecida popularmente como canela-batalha, mudas submetidas a diferentes níveis de sombreamento, 30%, 50%, 70% e a pleno sol, verificou-se que o nível de 70% de sombreamento proporcionou maior razão clorofila *a/b*, sendo esta razão reduzida com o aumento da radiação, tendo a pleno sol os menores valores (ALMEIDA et al., 2004). Embora neste estudo não se tenha observado alteração da razão clorofila *a/b* com o aumento do sombreamento, ocorreu aumento da clorofila *a* com sombreamento a 50% e 80% (Tabela 5) e esse maior acúmulo de clorofila em ambientes mais

sombreados pode ser devido a um efeito compensatório da espécie a menor quantidade de radiação disponível no intuito de otimizar a absorção da luz.

A deficiência de luz (75% de sombreamento) estimulou significativamente os teores de clorofila *a*, *b*, total em plantas de *Achillea millefolium* L. (mil-folhas), pertencente à família Asteraceae. O sombreamento causou um aumento significativo na razão clorofila total/carotenóides e redução na razão clorofila *a/b* (LIMA et al., 2011). Em outro estudo realizado com feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), pertencente à família Fabaceae, as plantas foram submetidas a dois tipos de tratamento: ambiente normal (pleno sol) e ambiente artificial (50% de luminosidade). Verificou-se diferença significativa para os teores de clorofila *a* e *b*, sendo o primeiro 34% e o segundo 39% superior no ambiente artificial (SANTOS et al., 2011). De acordo com Scalon et al. (2003), o aumento da clorofila *b* é um importante mecanismo de adaptação à condição de menor intensidade luminosa, pois capta energia de outros comprimentos de onda transferindo-a para a clorofila *a*, que efetivamente atua nas reações fotoquímicas da fotossíntese.

Embora para a espécie estudada neste trabalho não tenha havido diferenças no teor de clorofila *b* entre os tratamentos e nem na razão *a/b* (Tabela 5) é comum maior proporção relativa de clorofila *b* em plantas sombreadas, o que possibilita a captação de energia de outros comprimentos de onda e transferência para uma molécula específica de clorofila *a*, que efetivamente toma parte das reações fotoquímicas da fotossíntese (WHATLEY e WHATLEY, 1982). A diminuição na razão clorofila *a/b*, à medida que diminui a intensidade de radiação, é discutida como ocorrendo em função do enriquecimento do espectro VD (vermelho distante) nas condições de sombra, provocando, assim, um aumento das reações do fotossistema II, o qual é mais rico em clorofila *b* que em clorofila *a* (ANDERSON, 1986) e, provavelmente, atua como um sistema de aclimatização de plantas em ambientes enriquecidos com o espectro VD (Chow et al., 1990). Essa aclimatização tem o sentido de maximizar a absorção de radiação em condições de sombreamento. No entanto, assim como ocorrido neste trabalho outras espécies também não sofrem variação na razão clorofila *a/b* e clorofila *b* em função do sombreamento, à exemplo de *Anadenanthera colubrina* (FERREIRA et al., 2012).

Os teores de carotenoides foram maiores com 80% e 50% de sombreamento. Os tratamentos pleno sol e 30% não diferiram entre si, mas estes apresentaram valores inferiores aos demais tratamentos (Tabela 5). Valores semelhantes foram encontrados em outro estudo, em que os maiores valores para carotenoides foram observados em plantas de *H. courbaril* e *E. contortisiliquum* quando cultivadas a 80% de sombreamento, diferindo entre todos os outros tratamentos (LIMA et al., 2010). Já Zanella et al. (2006) verificaram em plantas de

maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) com 90 dias após a semeadura, com níveis de sombreamento 50% e 80% e a pleno sol, um decréscimo na concentração de carotenoides totais com o aumento do sombreamento.

Estes pigmentos durante a fotossíntese podem desempenhar duas funções distintas: absorção de luz nos complexos de captação de luz atuando como pigmentos acessórios e atuando como fotoprotetores do aparato fotoquímico pela dissipação de energia na forma de calor, prevenindo danos fotooxidativos às moléculas de clorofila (BOARDMAN, 1997).

Embora se perceba um aumento de carotenoides em folhas submetidas às condições de sombra para algumas espécies, a exemplo do que foi observado neste trabalho (Tabela 5), em detrimento dessa condição não ser indutora de aumento de danos foto-oxidativos, alguns estudos mostram que a condição de sol e sombra altera o tipo de carotenoide, em função de sua atuação no aparato fotorreceptor ou fotoprotetor. Thayer e Bjorkman (1990) observaram que os teores dos carotenoides que participam do ciclo da xantofila (violaxantina, zeaxantina e anteroxantina) são maiores em folhas crescidas ao sol, pela sua maior atuação desses carotenoides na dissipação de energia na forma de calor, no entanto não havia diferenças significativas entre outras xantofilas como luteína e neoxantina (as quais estão associadas a proteínas de fotorrecepção nas antenas dos tilacóides) em folhas crescidas à sombra e ao sol e também a razão de α -caroteno/ β -caroteno aumentava substancialmente em folhas crescidas à sombra ou simplesmente não havia α -caroteno em folhas crescidas ao sol. A manutenção de altas concentrações de β -caroteno em folhas crescia ao sol é fundamental como precursor à síntese dos carotenoides que participam do ciclo das xantofilas.

6.4. Análises de composição centesimal

Não houve diferenças significativas no percentual de cinzas nos diferentes níveis de sombreamento. Já para lipídios, plantas cultivadas no tratamento com 80% de sombreamento apresentaram menor percentual, e nos demais tratamentos não tiveram diferença entre si. Para nitrogênio e proteínas os tratamentos com 50% e 80% de sombreamento apresentaram maiores percentuais (Tabela 6).

Tabela 6: Composição centesimal das folhas de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd cultivada em diferentes níveis de sombreamento.

Níveis de sombreamento	Composição centesimal			
	Cinzas	Lipídios	Nitrogênio total	Proteínas totais
Pleno sol	1, 15 a \pm 0,42	6, 33 a \pm 0,01	1, 98 b \pm 0,15	12, 43 b \pm 0,09
30%	1, 27 a \pm 0,39	6, 12 a \pm 0,05	2, 02 b \pm 0,10	12, 64 b \pm 0,04
50%	1, 39 a \pm 0,10	6, 07 a \pm 0,11	2, 38 a \pm 0,10	14, 95 a \pm 0,10
80%	1, 30 a \pm 0,06	5, 11 b \pm 0,06	2, 46 a \pm 0,04	15, 41 a \pm 0,10

Dados de avaliação realizada em triplicata. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, $p \leq 0,05$. As médias estão seguidas pelo percentual do coeficiente de variação.

O conteúdo de minerais observados em estudo em realizado por Poorter et al. (2006) aumentou de 30-41% em folhas de plantas crescidas em condições sombreadas. É possível que este resultado tenha ocorrido devido reduzido acúmulo comparativo na formação de fotoassimilados em plantas crescidas à sombra em relação àquelas crescidas a pleno sol. Uma vez que não se observou esse comportamento nas plantas cultivadas neste estudo (Tabela 6) é possível inferir que este comportamento seja um indício de alta plasticidade fotossintética desta espécie às condições tanto de pleno sol quanto sombreadas.

Comumente, tanto lipídeos quanto nitrogênio e proteínas são compostos encontrados em maior concentração em folhas de plantas crescidas ao sol em comparação àquelas crescidas à sombra (MELETIOU-CHRISTOU et al., 1994). O teor de nitrogênio geralmente está associado a capacidade fotossintética da planta (BOLTON e BROWN, 1980), capacidade esta que em plantas de sol tende a ser maior quando submetidas a condição de alta incidência de radiação. O aumento no teor de nitrogênio nas condições de maior incidência de radiação ocorre devido sua alocação em proteínas que participam do processo fotossintético, uma vez que o conteúdo de clorofila tende a diminuir nas condições de pleno sol. Portanto esse maior acúmulo de nitrogênio nas condições de maior luminosidade é especialmente alocado em proteínas-chaves no processo fotossintético, como a rubisco (ribulose 1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase), a qual concentra uma proporção média de 20% do total de nitrogênio

foliar em plantas C3 estando em boas condições de nutrição (EVANS e SEEMAN, 1984). Essa relação tem sido comprovada para diferentes espécies e em diferentes situações ambientais de radiação (BOLTON e BROWN, 1980; SEEMAN et al., 1987). Embora tenha sido observado neste trabalho, que tanto o percentual de clorofila (Tabela 5) quanto o de nitrogênio e proteínas aumenta (Tabela 6) nas condições de sombreamento provavelmente este comportamento ocorra devido a uma maior plasticidade fotossintética da espécie em estudo às condições de sombreamento em relação às espécies utilizadas em estudos prévios. Assim como observado neste trabalho, Poorter et al. (2006) também constataram que a concentração de proteínas foi mais elevada em folhas decíduas com fraca incidência luminosa e também em plantas lenhosas quando sombreadas, quando em comparação a plantas cultivadas a pleno sol.

Embora seja comum um maior teor de lipídeos totais em folhas expostas a alta incidência de radiação não se observa interferência das condições de sol e sombra no grau de insaturação dos ácidos graxos, mas sim na sua composição, uma vez que um aumento na incidência de radiação luminosa estimula a produção de lipídeos ricos em ácido linolênico (MELETIOU-CHRISTOU et al., 1994). No entanto a radiação pode interferir no teor de lipídeo foliar a depender da característica permanente ou caducifólia da planta, uma vez que foi observado em folhas de plantas caducifólias, quando da condição de baixa intensidade de radiação, um aumento no teor de lipídeo de 4-30% em comparação a plantas submetidas à alta radiação (POORTER et al., 2006).

7- CONCLUSÕES

Através do cultivo de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd em diferentes níveis de sombreamento, observou-se que os tratamentos com 50% e 80% de sombreamento induziram aumento nos conteúdos de clorofila a, clorofila total, carotenoides e no percentual de nitrogênio total, proteína total e na área foliar.

Os conteúdos de clorofila b, a razão de clorofila a/b, estômatos e tricomas da epiderme abaxial e o percentual de cinzas não diferiram entre os tratamentos.

O percentual de lipídios foi menor no tratamento de 80%, não havendo diferenças estatísticas entre os demais tratamentos.

A espessura do limbo foliar foi maior nas plantas submetidas ao tratamento pleno sol.

A produção de óleo essencial de *Tetradenia riparia* é maior quando as plantas são cultivadas sob telas de 30% e 50%. O componente majoritário do óleo essencial de *T. riparia*, em todos os tratamentos estudados, é o hidrocarboneto sesquiterpênico 14-hidróxi-9-epi-(E)-cariofileno. Altos teores do componente fenchona no óleo essencial de *T. riparia* foram encontrados nos tratamentos a pleno sol, 30% e 50% de sombreamento, havendo redução abaixo da metade no tratamento com 80% de sombreamento.

Os componentes Triciclono, Verbeneno, α -Humuleno, Chamigreno e Epi- α -Cadinol foram encontrados apenas nas plantas de *T. riparia* cultivadas a pleno sol, γ -Himachaleno e α -Muuroloeno foram identificados somente nas plantas cultivadas com 30% de sombreamento. α -Pinoeno, β -Felandreno, Longifoleno, 2,4(14)-dieno-Widdra e α -1,7-diepe-Cedrenal identificados somente nas plantas cultivadas com 50% de sombreamento. β -Selineno e α -Muurolol foram encontrados apenas nas plantas cultivadas com 80% de sombreamento.

Houve redução nos teores de Sabineno, Limoneno, Cânfora, Isoborneol, (E)-Cariofileno e α -Terpineol nas plantas cultivadas a 80% de sombreamento e aumento nos teores de α -Trans-Bergamoteno e Cubenol observados em plantas cultivadas a 50% de sombreamento

A produção e composição de óleos essenciais em *T. riparia* é influenciada por diferentes níveis de sombreamento.

Referências Bibliográficas

ABRAMS, M.D.; MOSTOLLER, S.A. Gas exchange , leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understory sites during a drought. **Tree Physiology**, v.15, n.6, p.361-70, 1995.

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Carol Stream, IL. 2007. 804p.

ALEXANDRE R.F.A.; GARCIA, F.N.; SIMÕES, C.M.O.A fitoterapia baseada em evidências- Medicamentos fitoterápicos elaborados com ginkgo, hipérico, kava e valeriana. **Acta farma Bonaerense**, v.24, n.2, p.300-309, 2005.

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

ALVARENGA, A.A. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. **Revista Árvore**, v. 27, n. , p. 53-57, jan-fev, 2003.

ANDERSON, J.M. Photoregulation of the composition, function and structure of thylacoid membranes. **Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology**, v. 37, p. 93-136, 1986.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL AND AGRICULTURAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis**. 10th ed. 1970.

BAZAAZ, F.; CHIARIELLO, N.; COLEY, P.; PITELKA, L. Allocating Resources to Reproduction and Defense. **Bioscience**, v. 37, n. 1, p. 58-60, Jan, 1987.

BELLIZI, M. C.; FRANKLIN, M. F., DUTHIE, G. G.; JAMES, W. P. T. Vitamin E and coronary heart disease: the European paradox. **Eur. J. Clin. Nutr**, v. 48, n. 11, p. 822-831, Mar, 1994.

BERGAMO, D.C.B.; MASSUO, K.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M. Biosynthetic origins of the isoprene units of 4-Nerolidylcatechol in *Pothomorphe umbellata*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6, p. 1406-1409, 2005.

BHAVANANI, S.M; BALLOW, C.H. New agents for Gram-positive bacteria. **Curr Opin Microbiol**, v. 13, n.5, p. 528-534, Out, 1992.

BIZZO, H.R. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, p.588-594, 2009.

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

BOLTON, J.K.; BROWN, R.H.; Photosynthesis of grass species differing in carbon dioxide fixation pathways V. response of panicum maximum, panicum, milioides, and tall-fescues (*Festuca arundinacea*) to nitrogen nutrition. **Plant Physiology**, v. 66, p. 97-100, 1980.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 48, de 16 de dezembro de 2004. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/index.htm>>.

BURBOTT, A.J.; LOOMIS, W.D. Effects of light and temperature on the monoterpenes of peppermint. **Plant Physiology**, v. 42, n. 1, p. 20-28, Jan, 1967.

BURKHARD, P.R.; BURKHARDT K.; HAENGGELI C.A.; LANDIS,T. Plant-induced seizures: reappearance of an old Problem. **J Neurol**, v. 246, p.667-67, 1999.

CAMM, E.L.; TOWERS, G.H.N. 1977. Phenylalanine ammonia lyase. In: REINHOLD, L.; HARBORNE, J.B.; SWAIN, T. **Progress in Photochemistry**. New York: Pergammon Press, 1997, v, 4, p. 169-188.

CANTINO, P.D. The phylogenetic significance of stomata and trichomes in Labiatae and Verbenaceae. **Journal of the Arnold Arboretum**, v. 71, p. 323-370, 1990.

CAPECKA, E.; MARECZEK, A.; LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. **Food Chemistry**, London, v. 93, n. 2, p. 223-226, Nov, 2005.

CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; SOARES, A.M.; MELO, H.C.; BERTALUCCI, S.K.V.; VIEIRA, C.V.; JÚNIOR, E.C.L. Adaptações anatômicas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae), em três regiões distintas da planta, em diferentes níveis de sombreamento. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.2, p.8-16, 2007.

CHAVES, A.S.; PAIVA, H.N. Influência de diferentes períodos de sombreamento sobre a qualidade de mudas de fedegoso (*Senna macranthera* (Collad). Irwin et Barn.). **Scientia Forestalis**, v. 65, n. 1, p. 22-29, 2004.

CHOW, W.S.; MELIS, A.; ANDERSON, J.M. Adjustments of photosystem stoichiometry in chloroplasts improve the quantum efficiency of photosynthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, p. 7502-7506, 1990.

CHRISTIE, P. J.; ALFENITO, M. R.; WALBOT, V. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. **Planta**, v. 194, n. 4, p. 541-549, Dez, 1994.

CODD, L.E. The genus *Tetradenia* (Lamiaceae) African species. **Bothalia**, Pretoria, n. 14, p. 177-184, 1983.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. **New Phytologist**, v.172, p.11-21, 2006.

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

ENGEL, V. L. Influência do sombreamento sobre o crescimento de mudas de essências nativas, concentração de clorofila nas folhas e aspectos de anatomia. 1989. 202 f. *Dissertação* (Mestrado em Ciências Florestais) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz , Piracicaba, 1989.

ENGEL, V.L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3, n. 1, p.39-45, 1991.

ESPINDOLA JUNIOR, A.; BOEGER, M.R.T.; MACCARI JÚNIOR, A.; REISSMANN, C.B.; KICKLI, F.L. Variação na estrutura foliar de *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) sob diferentes condições de luminosidade. **Revista Brasil. Bot.**, v.32, n.4, p.749-758, Dez, 2009.

EVANS, J.R.; SEEMAN, J.R. Differences between wheat genotypes in specific activity of RuBP carboxylase and the relationship to photosynthesis. **Plant Physiology**, v. 74, p. 759-765, 1984.

FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. A. Influência do sombreamento artificial e da adubação química na produção de mudas de *Adenanthera pavonina* L. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 49-56, 2003.

FIELD, T.S.; BRODRIBB, T.; JAFFRÉ, T.; HOLBROOK, N.M. Acclimation of leaf anatomy, photosynthetic light use, and xylem hydraulics to light in *Amborella trichopoda* (Amborellaceae). **International Journal of Plant Science**, v.162, n.5, p.999-1008, 2001.

FERREIRA, W. N.; ZANDEVALLI, B.; BEZERRA, A. M. F.; FILHO, S.M. Crescimento inicial de *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke (Mimosaceae) e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb.) Altshul (Mimosaceae) sob diferentes níveis de sombreamento. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 4, p.408-414, 2012.

FILHO, V.C.; PEDROSA, R.C.; YUNES, R.A. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, Set, 2001.

GERSHERZON, J.; McCONKEY, M.E.; CROTEAU, R.B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology**, v.122, p.205-213, 2000.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.

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

GOMES, P.A.; SOUZA, M.F.; SOUZA, I.T.; CARVALHO, W.G.O.; FIGUEIREDO, L.S.; Influência do sombreamento na produção de biomassa, óleo essencial e quantidade de tricomas glandulares em cidrão (*Lippia citriodora* Lam.). *Revista Biotemas*, v.22, n.4, p.9-14, 2009.

GUO, J.; WANG, M.H. Characterization of the phenylalanine ammonia-lyase gene (SIPAL5) from tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Molecular Biology Reports**, v. 36, p.1579-1585, 2009.

GRACE, S. C.; LOGAN, B. A. Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B**, v. 355, n. 1402, p. 1499-1510, Out, 2000.

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

HIRATA, K.; ASADA, M.; YATANI, E.; MIYAMOTO, K.; MIURA, Y. Effects of Near-Ultraviolet Light on Alkaloid Production in *Catharanthus roseus* Plants. **Planta Med.**, v. 59, n.1. p. 46-50, 1993.

HOFLACHER, H.; BAUER, H. Light acclimation in leaves of the juvenile and adult life phases of ivy (*Hedera helix*). **Physiologia Plantarum**, v. 56, p. 177-182, 1982.

HÖFT, M.; VERPOORTE, R.; BECK, E. Growth and alkaloid contents in leaves of *Tabernaemontana pachysiphon* Stapf (Apocynaceae) as influenced by light intensity, water and nutrient supply. **Oecologia**, v. 107, p. 160-169, Jan, 1996.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Determinações Gerais. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4 ed. 1020p. 2008.

JANAS, K.; CVIKROVÁ, M.; PALAGIEWICZ, A. Alterations in phenylpropanoid content in soybean roots during low temperature acclimation. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.38, n.7/8, p.587-93, 2000.

JIAO, Y.; MA, L.; STRICKLAND, E.; DENG, X.W. Conservation and Divergence of Light-Regulated Genome Expression Patterns during Seedling Development in Rice and Arabidopsis **The Plant Cell**, v. 17, p. 3239–3256, Dez 2005.

JOHANSEN, D. A. 1940. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, New York, 523p.

KEEN, N. T.; TAYLOR, O. C. Isoflavonoid Accumulation Is Related to Necrosis. **Plant Physiol**, v. 55, n. 4, p. 731-733, Abr, 1975.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 2004. 452pp.

KIM, G.T.; YANO, S.; KOZUKA, T.; TSUKAYA, K. Photomorphogenesis of leaves: shade-avoidance and differentiation on sun and shade leaves. **Photochem. Photobiology Science**, v.4, p. 770-774, 2005.

KJELDAHL, J.Z. **A new method for the determination of nitrogen in organic bodies**. Analytical Chemistry. Washington, v. 22, p. 366, 1883.

KLICH, M.G. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 44, p.171-183, 2000.

KOUKI, M.; MANETAS, Y. Resource availability affects differentially the levels of gallotannins and condensed tannins in *Cerotonia siliqua*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, n.7, p.631-9, 2002.

KOZLOWSKI, T. ET AL. **The physiological ecology of woody plants**. San Diego: Academic Press, 1991. 308 p.

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

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Editora da UFRRJ, 1997. 198p.

KURZ, C.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. HPLC-DAD-MSn characterisation of carotenoids from apricots and pumpkins for the evaluation of fruit product authenticity. **Food Chemistry, London**, v. 110, n. 1, p. 522-530, 2008.

KUTCHAN, T. M. Ecological Arsenal and Developmental Dispatcher. The Paradigm of Secondary Metabolism. **Plant Physiol**, v. 125, n. 1, p. 58-60, 2001.

LABOURIAU, L.G.; OLIVEIRA, J.G.; SALGADO, M.L. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 23, n. 2, p. 237-257, 1961.

LACERDA, C. F. et al. Análise de crescimento de milho e feijão sob diferentes condições de sombreamento. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 1, p. 18-24, 2010.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima. 2000. 531p.

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

LAVOLA, A. ; TITTO, R.J.; ROSA, T.M. Allocation of carbon to growth and secondary metabolites in birch seedlings under UV-B radiation and CO₂ exposure. **Physiologia Plantarum**, v.109, n.3, p.260-7, 2000.

LÁZARO, C. C. M., et al. Interferência do sombreamento no desempenho de genótipos de *Stylosanthes guianensis*. **Científica**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 1-8, 2009.

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

LETCHAMO, W.; GOSSELIN, A. Effects of supplemental lighting and soil water levels on growth, essential oil content and composition of two thyme (*Thymus vulgaris* L.) clonal selections. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 75, n. 1, p. 231-238, 1995.

LETCHAMO, W.; MARQUARD, R.; HOLZL, J.; GOSSELIN, A. Effects of supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. **Angewandte Botanik**, v. 68, n. 3, p. 83-88, 1994.

LETCHAMO, W. Effect of Trace Elements on Cardiac Glycosides Accumulation in *Digitalis grandiflora*. **Planta Med.**, v. 5, n. 1, p.421, 1986.

LI, Y. L.; CRAKER, L. E.; POTTER, T. Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, v. 426, p. 419-427, 1996.

LICHTENTALER, H.K.; BUSCHMANN, C.; DOLL, M.; FIETZ, H.J. BACH, T.; KOZEL, U.; MEIER, D.; RAHMSDORF, U. Photosynthetic activity, chloroplast ultra structure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. **Photosynthesis Research**, v. 2, n.1, p. 115-141, 1981.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*. **New York: Academic**, p. 350-382, 1987.

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

LIMA, A.L.S.; ZANELLA, F.; CASTRO, L.D.M. Crescimento de *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang. e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae) sob diferentes níveis de sombreamento. **Acta Amazônica**, v.40, n. 1, p. 43-48, 2010.

LIMA, H.R.P.; KAPLAN, M.A.C.; CRUZ, A.V.M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. **Floresta e Ambiente**, v. 10, p.71-77, 2003.

LIMA, M.C.; AMARANTE, L.; MARIOT, M.P.; SERPA, R. Crescimento e produção de pigmentos fotossintéticos em *Achillea millefolium* L. cultivada sob diferentes níveis de sombreamento e doses de nitrogênio. **Ciência Rural**, v. 41, n. 1, p. 45-50, Jan, 2011.

MACMAHOM, M. J.; KELLY, J. W.; DECOTEAU, D. R.; YOUNG, R.E.; POLLOCK, RK. Growth of *Dendranthema x Grandiflorum* (Ramat.) Kitamura under various spectral filters. **Journal of American Society of Horticultural Science**, v. 116, n. 6, p. 950-954, Nov, 1991.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Braz. J. Food Technol.**, v. 10, n. 2, p. 96-103, abr./jun. 2007.

MARTINAZZO, E.G.; ANESE, S.; WANDSCHEER, A.C.D.; PASTORINI, L.H. Efeito do Sombreamento sobre o Crescimento Inicial e Teor de Clorofila Foliar de *Eugenia uniflora* Linn (Pitanga) – Família Myrtaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 162-164, Jul, 2007.

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

MARTINS, E.R. Influência do sombreamento na produção de biomassa, óleo essencial e quantidade de tricomas glandulares em cidrão (*Lippia citriodora* Lam.). **Revista Biotemas**, v. 22, n. 4, p. 9-14, Dez, 2009.

MARTINS, M.B.G.; MARTINS, R.G.M.; CAVALHEIRO, J.A. Histoquímica e atividade antibacteriana de folhas do incenso (*Tetradenia riparia*). **Revista Biociências**, v. 14, n. 2, p. 127-140, 2008.

MARTUSCELLO, J. A. et al. Produção de gramíneas do gênero *Brachiaria* sob níveis de sombreamento. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 7, p. 1183-1190, 2009.

MATTANA, R.S.; RIBEIRO, M.A.; MARCHESE, J.A.; MING ,L.C.; MARQUES, M.O.M. Shade level effects on yield and chemical composition of the leaf essential oil of *Pothomorphe umbellata* (L.) Miquel. **Sci. Agric.**, v. 67, n. 4, p. 414-418, Jul- Ago, 2010.

MATTOS, S.H.; INNECO, R. Idade ideal de corte da *Mentha arvensis* L. como produtora de óleo essencial e mentol para o Estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.5, n. 1, p. 15-18, 2002.

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

MEIRA, M.R.; MARTINS, E.R.; MANGANOTTI, S.A. Crescimento, produção de fitomassa e teor de óleo essencial de melissa (*Melissa officinalis* L.) sob diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 352-357, Ago, 2012.

MELETIOU-CHRISTOU, M.; RHIZOPOULOU, S.; DIAMANTOGLU, S. Seasonal changes of carbohydrates, lipids and nitrogen content in sun and shade leaves from four mediterranean evergreen sclerophylls. **Environmental and Experimental Botany**, v. 34, p.129-140, 1994.

MORAIS, H.; MEDRI, M.E.; MARUR, C.J.; CARAMORI, P.H.; RIBEIRO, A.M.A. GOMES, J.C. Modifications on Leaf Anatomy of *Coffea arabica* caused by Shade of Pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n. 6, p. 863-871, 2004.

MUSSI, L. Eficiência fotodinâmica das protoporfirinas IX de magnésio e zinco. 2003. 73p. Dissertação (Mestrado em Química) - Curso de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Unicamp.

NAKAZONO, E.M.; COSTA, M.C.; FUTATSUGI, K.; PAULILO, M.T.S. Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes regimes de luz. **Revta brasil. Bot.**, v. 24, n. 2, p. 173-179, 2001.

NDAMBA, J.; LEMMICH, E.; MØLGAARD, P. 1993. Investigation of the diurnal, ontogenetic and seasonal variation in the molluscicidal saponin content of *Phytolacca dodecandra* aqueous berry extracts. **Phytochemistry**, v. 35, n. 1, p. 95-99, Dez, 2001.

NERY, F.C.; ALVARENGA, A.A.; JUSTO, C.F.; CASTRO, E.M.; SOUZA, G.S.; ALVES, E. Aspectos anatômicos de folhas de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 129-131, jul. 2007.

OKUNADE, A.D. **Fitoterapia**. 2002. 73p.

OLIVEIRA, M. I.; CASTRO, E. M.; COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P.; AMARAL, T. A. PAIVA, C. L.; GUIMARÃES, R. J.; SOUZA, C. A. S. Influência de diferentes níveis de sombreamento sobre o crescimento de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 1, p. 134-140, 2003.

PARÉ, P. W.; TUMLINSON, J. H. De Novo Biosynthesis of Volatiles Induced by Insect Herbivory in Cotton Plants. **Plant Physiol.**, v. 114, n. 4, p. 1161-1167, Ago, 1997.

PEDROSO, S. G.; VARELA, V. P. Efeito do sombreamento no crescimento de mudas de Sumaúma (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 47-51, 1995.

PEER, W. A.; BRIGGS, W. R.; LANGENHEIM, J. H. Shade-avoidance responses in two common coastal redwood forest species, *Sequoia sempervirens* (Taxodiaceae) and *Satureja douglasii* (Lamiaceae), occurring in various light quality environments. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 86, n. 5, p. 640-645, Maio, 1999.

PEGORARO, R. L. Avaliação do crescimento e produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* l. var. *piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 2007. 59pp.

PEGORARO, R.L.; FALKENBERG, M.B.; VOLTOLIN, C.H.; SANTOS, M.; PAULILO, M.T. Produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição do substrato. **Revista Brasil. Bot.**, v. 33, n. 4, p. 631-637, Out- Dez, 2010.

PIEREZAN, L.; SCALON, S.P.Q.; PEREIRA, Z.V. Emergência de plântulas e crescimento de mudas de Jatobá com uso de bioestimulante e crescimento. **Cerne**, v. 18, n. 1, p. 127-133. Jan- Mar, 2012.

PINTO, J.E.B.P.; CARDOSO, J.C.W.; CASTRO, E.M.; BERTOLUCCI, S.K.V.; MELO, L.A.; DOUSSEAU, S. Espectros morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do- Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 210-214. Abril- Jun, 2007.

PONTES, W.J.T.; OLIVEIRA, J.C.G.; CÂMARA, C.A.G.; LOPES, A.C.H.R.; GONDIM JÚNIOR, M.G.C.; OLIVEIRA, J.V.; BARROS, R.; SCHWARTZ, M.O.E. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). **Acta Amazonica**, v. 37, n.1, p. 103-110, 2007.

POORTER, H.; PEPIN, S.; KIJKERS, T.; JONG, Y.; EVANS, J.; KORNER, C. Construction costs, chemical composition and payback time of high- and low-irradiance leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 2, p. 355–371, 2006.

QUIRÓS, A. R.; COSTA, H. S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 2, p. 97-111, Mar- Maio, 2006.

RAMOS, K. M. O.; FELFILI, J. M.; FAGG, C. W.; SOUSA-SILVA, J. C.; FRANCO, A. C. SMITH. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemao) em diferentes condições de sombreamento. **Acta Botânica Brasílica**, v. 18, n.2, p. 351-358, 2004.

RAMOS, S.J.; FERNANDES, L.A.; MARQUES, C.C.L.; SILVA, D.D.; PALMEIRA, C.M.; MARTINS, E.R. Produção de matéria seca e óleo essencial de menta sob diferentes doses de fósforo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 1, p. 9-12, 2005.

REGO, G. M. R. T. Efeito do sombreamento sobre o teor de clorofila e crescimento inicial do Jequitibá-rosa. **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 53, n. 1, p. 179-194, 2006.

RIVAS, D. A. P. Arquitectura y modelos de regeneración en plantas medicinales comercializadas en Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Santiago, Chile, 2003. 53pp.

RIVERO, R.M.; RUIZ, J.M.; GARCIA, P.C. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. **Plant Science**, v.160, n.2, p.315-21, 2001.

ROCA-PÉREZ, L.; BOLUDA, R.; GAVIDIA, I.; PÉREZ-BERMÚDEZ, P. Seasonal cardenolide production and *Dop5βr* gene expression in natural populations of *Digitalis obscura*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 13, p. 1869-1878, Jul, 2004.

RODRIGUES, C.R.; FAQUIN, V.; TREVISAN, D.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLOCCI, S.K.V.; RODRIGUES, T.M. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta

(*Mentha x piperita* L.) em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e época de coleta. **Horticultura Brasileira**, v, 22, n. 3, p. 573-578. Jul-Set, 2004.

ROMANO, M.R. Análise de crescimento, produção de biomassa, fotossíntese, e biossíntese de aminoácidos em plantas transgênicas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) que expressam o gene *Lhcb1*2* de ervilha. 2001. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de plantas) - Esalq / USP.

ROPERTO; OKA. C .A. **Herbário Aquileia: Coleta e Princípios Ativos**. São Paulo. 2000.

ROPKE, C.D.; MEIRELLES, R.R.; SILVA, V.V.; SAWADA, T.C.H.; BARROS, S.B.M. *Pothomorphe umbellata* extract prevents a-tocoferol depletion aftes UV-irradiation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 78, n. 1, p. 436-439, 2003.

ROSAL, L. F. Produção de biomassa, óleo essencial e características fisiológicas anatômicas foliares de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função da adubação orgânica, malhas coloridas e idade das plantas. Universidade Federal de Lavras. *Tese de Mestrado*. 2008.

SALES, J.F.; PINTO, J.E.B.P.; FERRI,P.H.; SILVA, F.G.; OLIVEIRA, C.B.A.; BOTREL, P.P. Influência do nível de irradiância no crescimento, produção e composição química do óleo essencial de hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* Epl.). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 389-396, Abr- Jun, 2009.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant Physiology**. 4. ed. Belmont: Company. 1992.

SANTIAGO, E.J.A.; PINTO, J.E.B.P.; CASTRO, E.M.; LAMEIRA, O.A.; CONCEIÇÃO, H.E.; GAVILANES, M.L. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v.25, n.5, p.1035-1042, set./out., 2001.

SANTOCONO, M.; ZURRIA, M.; BERRETTINI, M.; FEDELI, D.; FALCIONI, G. Lutein, zeaxanthin and astaxanthin protect against DNA damage in SK-N-SH human neuroblastoma cells induced by reactive nitrogen species. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 88, n. 1, p. 1-10, Jul, 2007.

SANTOS, E.R.; BORGES, P.R.S.; SIEBENEICHLER, S.C.; CERQUEIRA, A. P.; PEREIRA, P.R. Crescimento e teores de pigmentos foliares em feijão-caupi cultivado sob dois ambientes de luminosidade. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 4, p. 14-19, Out-dez, 2011.

SARER, E.; KÔKDIL, G. Constituents of the essential oil from *Melissa officinalis* L. **Planta Medica**, v. 57, n.1, p. 89-90. 1991.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M.; RIGONI, M.R.; FILHO, H.S. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. **R. Árvore**, Viçosa-MG, v.27, n.6, p.753-758, 2003.

SCALON, S.P.Q.; ALVARENGA, A.A. Efeito do sombreamento sobre a formação de mudas de pau-pereira (*Platycyamus regnelli* Benth). **Revista árvore**, v. 17, n.1, p. 265-270, 1993.

SCHEUERMANN, G. N.; JUNIOR, A.C. Perspectivas para a utilização de produtos de origem vegetal como aditivos alternativos na alimentação de aves. EMBRAPA- Suínos e Aves. Santa Catarina. 2005.

SCHMIDT, T. J.; BOMME, U.; ALFERMANN, A. W. Sesquiterpene Lactone Content in Leaves of *in vitro* and Field Cultivated *Arnica Montana*. **Planta Med.**, v. 64, n. 3, p. 268-270, 1998.

SCHOEFS, B. CHLOROPHYLL AND CAROTENOID ANALYSIS IN FOOD PRODUCTS. Properties of the pigments and methods of analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 11, p. 361-371, Nov, 2002.

SCHUERGER, A,C.; BROWN, C.S.; STRY, E.C. Anatomical Features of Pepper Plants (*Capsicum annuum* L.) Grown under Red Light-emitting Diodes Supplemented with Blue or Far-red Light. **Annals of Botany**, v. 79, n. 3, p. 273-282, 1997.

SCOLASTICI, C.; LIMA, R. O.; BARBISAN, L. F.; FERREIRA, A. L.; RIBEIRO, D. A.; SALVADORI, D. M. Lycopene activity against chemically induced DNA damage in Chinese hamster ovary cells. **Toxicology in Vitro**, v. 21, n. 5, p. 840-845, Ago, 2007.

SEEMANN, J.R.; SHARKEY, T.D.; WANG, J.; OSMOND, B. Environmental effects on photosynthesis nitrogen-use efficiency and metabolite pools in leaves of sun and shade plants. **Plant Physiology**, v. 84, p. 796-802, 1987.

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

SILVA, L.M., ALQUINI, Y.; CAVALLET, V.J. Interrelações entre anatomia vegetal e produção vegetal. **Acta Botanica Brasilica**, v.19, p.183-194, 2005.

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.

SIMÕES, C.M.O. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. 6. ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre. 2007.

SIMS, D.A.; PEARCY, R.W. Response of leaf anatomy and photosynthetic capacity in *Alocasia macrorrhiza* (Araceae) to a transfer from low to high light. **American Journal of Botany**. Columbus, v.79, n.4, p.449-455, 1992.

SIQUI, A.C.; SAMPAIO, A.L.F.; SOUSA, M.C.; HENRIQUES, M.G.M.O.; RAMOS, M.F.S. Óleos essenciais - potencial anti-inflamatório. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 16, p. 38-43, 2000.

SOUTHWELL, I. A.; BOURKE, C. A. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum*L. (St. John's Wort). **Phytochemistry**, v. 56, n. 5, p. 437-441, Mar, 2001.

SOUZA, M.F.; GOMES, P.A.; SOUZA, I.T.; FONSECA, M.M.; SIQUEIRA, C.S.; FIGUEIREDO, L.S.; MARTINS, E.R. Influência do Sombreamento na Produção de Fitomassa e Óleo Essencial em Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 108-110, Jul, 2007.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 2005.

STREIT, N.M.; CANTERLE, L.P.; CANTO, M.W.; HECKTHEUER, H.H. As Clorofilas. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.35, n.3, p.748-755, mai-jun, 2005.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed. 2004. 719p.

TANAKA, A. ET AL. Chlorophyll *a* oxygenase (CAO) is involved in chlorophyll *b* formation from chlorophyll *a*. **Plant Biology**, v. 95, n. 21, p. 12719-12723, 1998.

TERASHIMA, I.; HANBA, Y. T.; TAZOE, Y.; VYAS, P.; YANO, S. Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO₂ diffusion. **Journal of Experimental Botany**, Eynshan, v. 57, n. 2, p. 343–354, 2006.

TERASHIMA, I.; MIYAZAWA, S.I.; HANBA, Y.T. Why are sun leaves thicker than shade leaves? Consideration based on analyses of CO₂ diffusion in the leaf. **Journal Plant Res.**, v. 114, p. 93-105, 2001.

THAYER, S.S.; BJORKMAN, O. Leaf Xanthophyll content and composition in sun and shade determined by HPLC. **Photosynthesis Research**, v. 23, n. 3, p.331-343, Mar 1993.

TOLEDO, A. C. O. et al. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, Bragança Paulista, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, jan./dez. 2003.

TURNER, G.W.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R.B. Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. **Plant Physiology**, v. 124, p. 655-663, 2000.

VALIO, I. F. M. Effects of Shading and removal of plant parts on Growth of *Trema micrantha* Seedlings. **Tree Physiology**, v. 21, n. 1, p. 65-70, 2001.

VALMOBIRDA, J.; BOARO, C.F.S.; MARQUES, M.O.M.; FERRI, A.F. Rendimento e composição química de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes concentrações de potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 56-61, 2006.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D.J. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, n.1, p. 463-471, 1963.

VAN DUNKEL, F. et al. Antimicrobial and insectidal activity of essential oil from leaves of *Tetradenia riparia*. **Planta medica**, v. 56, p. 645, 1990.

VAN DUNKEL, F. et al. Population suppression effects of Rwandan medicinal plant, *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae) on stored grain and bean insects. International working conference on stored-product protection. **Bordeaux (France)**, p. 9-14, Set 1990.

VAN PUYVELDE, L.; DE KIMPE, N. Active principles of *Tetradenia riparia*. I. Antimicrobial activity of 8(14), 15-sandaracopimaradiene- 7 α ,18-diol. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 17, n. 3, p. 269 – 275, Set 1986.

VAN PUYVELDE, L.; DE KIMPE, N. Active principles of *Tetradenia riparia*. 2. Antispasmodic activity of 8(14), 15- Sandaracopimaradiene-7-alpha, 18-Diol. **Planta Medica**, v. 53, n. 2, p. 156 – 158, 1987.

VEIT, M.; BILGER, W.; MÜHLBAUER, T.; BRUMMET, W.; WINTER, K.; J. Diurnal Changes in Flavonoids. **Plant Physiol.**, v. 148, n. 3, p. 478-482, 1996.

VENDRAMINI, F.; DÍAZ, S.; GURVICH, D.E., WILSON, P.J.; THOMPSON, K.; HODGSON, J.G. Leaf traits as indicators of resource-use strategy in fl oras with succulent species. **New Phytologist**, v. 154, n.1, p.147-157, 2002.

VENTRELLA, M. C.; MING, L. C. Produção de matéria seca e óleo essencial em folhas de erva-cidreira sob diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 18, n. 1, p. 972-974, 2000.

VILELA, A. E.; RAVETTA, D. A. The effect of radiation on seedling growth and physiology in four Species of *Prosopis* L. (Mimosaceae). **Journal of Arid Environments** v. 44, p. 415-423, 2000.

VOLTAN, R.B.Q.; FAHL, J.I.; CARELLI, M.L.C. Variação na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. **R. Bras. Fisiol. Veg.**, v.4, n.2, p.99-105, 1992.

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

WITUSZVNSKA, W.; KARPINSKI S. Programmed cell death as a response to high light, UV and drought stress in plants. In: VAHDATI, K.; LESLIE, C. **Abiotic Stress: Plant Responses and Applications in Agriculture**. InTech, 2013 410p.

ZANELLA, F.; SONCELA, R.; LIMA, A.L.S. 2011. Formação de mudas de maracujazeiro “amarelo” sob diferentes níveis de sombreamento em Ji- Paraná/RO. **Ciênc. Agrotec**, v. 30, n. 4, p. 880-884, Set-Out, 2011.

ZUCKER, M. Light and enzymes. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 23, p. 133-156, 1972.