

**ARI ESPINDOLA JUNIOR**

**MORFOLOGIA E ANATOMIA FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES MEDICINAIS  
(*Mikania glomerata* Spreng. – ASTERACEAE e *Bauhinia forficata* Link. -  
LEGUMINOSAE) ASSOCIADAS À ERVA MATE, SOB DIFERENTES CONDIÇÕES  
DE LUMINOSIDADE**

**Dissertação de Mestrado em Botânica,  
apresentado ao Curso de Pós-graduação  
em Botânica, Setor de Ciências Biológicas,  
Universidade Federal do Paraná (UFPR).**

**Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Regina T.  
Boeger.**

**Co-orientador: Prof. Msc. Agenor Maccari  
Junior.**

**CURITIBA**

**2006**

À Deus, ao meus familiares e a minha  
querida amiga, companheira e esposa  
Letícia, por tudo que significam  
Dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço:

À Prof. Dr<sup>a</sup> Maria Regina Torres Boeger, pelo apoio com sua orientação e amizade ao longo destes anos; ao Prof, Dr Walter Boeger, pelo auxílio em múltiplos campos e momentos; aos meus colegas de laboratório, por tornar nosso local de trabalho além de tudo divertido; a Letícia, minha amiga, colega e companheira para todos os momentos (além de esposa).

Ao Departamento de Botânica e ao curso de Pós-Graduação em Botânica pela infra-estrutura ofertada para o desenvolvimento dos trabalhos; ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR, pela utilização dos equipamentos e auxílio metodológico; a CAPES pela bolsa de mestrado; ao meus colegas e amigos do mestrado; ao Nilson Belém Filho, pelas dicas e auxílio técnico a todos que dispõem do laboratório de Botânica Estrutural; aos professores do Departamento que de alguma forma contribuíram para minha formação.

À Fundação Araucária, pelo financiamento ao projeto; ao Prof. Msc. Agenor Macari Júnior e Fernanda Lessa Rickli, pelo apoio na fase inicial do experimento e coleta; ao Prof. Dr. Valmiqui Costa Lima pela identificação do solo; ao Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann pelo imenso apoio em diversos momentos, compartilhando de seus conhecimentos sobre solos; aos proprietários e funcionários da fazenda Capão Bonito, Castro PR, pela gentileza em ceder o espaço e contribuir para manutenção do experimento.

À Deus; Aos meus familiares, pelo apoio e torcida.

Simplesmente obrigado.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	xii
<b>LISTA DE TABELAS</b>	ix
<b>RESUMO</b>	xi
<b>INTRODUÇÃO</b>	1
<b>OBJETIVOS</b>	5
<b>CAPÍTULO 1: Variação na estrutura foliar de <i>Mikania glomerata</i> Spreng.</b>	7
(Asteraceae) sob diferentes condições de luminosidade	
1.1 Resumo	7
1.2 Abstract	8
1.3 Introdução	9
1.4 Material e métodos	11
1.5 Resultados e discussão	14
1.6 Agradecimentos	25
1.7 Referências bibliográficas	25
1.8 Tabelas	34
1.9 Figuras	38
<b>CAPÍTULO 1: Variação na estrutura foliar de <i>Bauhinia forficata</i> link.</b>	44
(leguminosae) sob diferentes condições de luminosidade.	
2.1 Resumo	44
2.2 Abstract	44
2.3 Introdução	46
2.4 Material e métodos	47
2.5 Resultados	50
2.6 Discussão	53
2.7 Agradecimentos	59
2.8 Referências bibliográficas	59
2.9 Tabelas	65
2.10 Figuras	67
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	68
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	69

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Em primeiro plano o tratamento campo e ao fundo o tratamento bosque.	15
Figura 02	Em primeiro plano tratamento meia sombra, apresentando sombreamento parcial e ao fundo tratamento bosque, com maior grau de sombreamento por cobertura vegetal.	15
Figura 03	Muda de <i>Bauhinia forficata</i> Link. em tratamento campo.	15
Figura 04	Detalhe de <i>Mikania glomerata</i> Spreng. em tratamento campo.	15

## CAPÍTULO 1

### **Varição na estrutura foliar de *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) sob diferentes condições de luminosidade**

Figura 01	Análise de componente principal (PCA) para características morfológicas de <i>Mikania glomerata</i> , representando os tratamentos campo (1), meia sombra (2) e bosque (3) em relação a PC1 e PC2.	51
Figura 02	Epiderme da face adaxial.	52
Figura 03	Epiderme da face abaxial.	52
Figura 04	Fotomicrografia dos tricomas em microscopia eletrônica de varredura.	52
Figura 05	Detalhe do tricoma em secção transversal, destacando tricoma glandular (tg) e parênquima lacunoso (pl).	52
Figura 06	Secção transversal do limbo evidenciando epiderme (ep), camada sub-epidérmica (cs), parênquima paliçádico (pp), parênquima lacunoso (pl), bainha parenquimática (bp), feixe vascular (fv) e ducto secretor (ds).	53

Figura 07	Nervura central da folha de <i>M. glomerata</i> em secção transversal, evidenciando camada sub-epidérmica (cs), colênquima angular (ca), ducto secretor (ds), feixe vascular (fv).	53
Figura 08	Esquema do pecíolo evidenciando epiderme (ep), colênquima angular (ca), feixes vasculares (fv), ductos secretores (ds) e parênquima fundamental (pf).	54
Figura 09	Detalhe do ducto secretor (ds)	54
Figura 10	Secção transversal do pecíolo evidenciando epiderme (ep), colênquima angular (ca), feixes vasculares (fv), ductos secretores (ds) e parênquima fundamental (pf).	54

## CAPÍTULO 2

### **Variação na estrutura foliar de *Bauhinia forficata* link. (Leguminosae) sob diferentes condições de luminosidade.**

Figura 01	Fotomicrografias em microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme adaxial.	79
Figura 02	Detalhe dos tricomas na epiderme abaxial em MEV.	79
Figura 03	Células epidérmicas da face abaxial.	79
Figura 04	Estômato na epiderme abaxial em MEV.	79
Figura 05	Tricomas na nervura de maior calibre, face abaxial.	79
Figura 06	Distribuição dos cristais no limbo foliar, destacando drusas (dr) e cristais prismáticos (cp).	79
Figura 07	Secção transversal do limbo, evidenciando epiderme (ep), drusa (dr), parênquima paliçádico (pp), bainha parenquimática (bp), extensão de bainha (eb) e feixe vascular (fv).	80
Figura 08	Secção transversal da nervura central, destacando feixe vascular (fv), esclerênquima (es) e parênquima fundamental (pf).	80
Figura 09	Secção transversal do pecíolo de <i>B. forficata</i> evidenciando esclerênquima (es), feixes vasculares (fv), calota de fibras (cf) e parênquima fundamental (pf).	80

Figuras 10	Detalhe do pecíolo, destacando feixe adaxial e calota de fibras.	80
Figura 11	Detalhe do feixe vascular central e esclerênquima.	80

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

#### **Variação na estrutura foliar de *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) sob diferentes condições de luminosidade**

Tabela 1	Tabela 1: Tipo de vegetação e valores médios das características físico-químicas do solo, obtidas a partir dos três blocos de cada tratamento testado (n = 3).	43
Tabela 2	Valores médios, respectivos desvios padrão (entre parênteses) e coeficientes de variação (cv%) das características morfológicas (n=19) e concentração de clorofila (n=6) para folhas de <i>Mikania glomerata</i> nos diferentes tratamentos. Letras diferentes para mesma variável representam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos testados (Tukey, p<0,05).	44
Tabela 3	Valores médios e respectivos desvios padrão (entre parênteses) e coeficientes de variação (cv%) das características anatômicas para folhas de <i>Mikania glomerata</i> nos diferentes tratamentos. Espessuras foliares, n=12 e espessuras do pecíolo, n=6. letras diferentes para mesma variável representam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos testados (tukey, p<0,05).	45
Tabela 4	Dois principais componentes (PC1 e PC2) obtidos a partir da matiz de correlação para as características anatômicas	46

mesuradas nas folhas de *Mikania glomerata*, nos diferentes tratamentos testados.

## CAPÍTULO 2

### **Variação na estrutura foliar de *Bauhinia forficata* link. (leguminosae) sob diferentes condições de luminosidade.**

- Tabela 1 Tipo de vegetação e valores médios das características físico-químicas do solo, para cada tratamento (n = 3). 76
- Tabela 2 Tabela 2: Valores médios, respectivos desvios padrão (entre parênteses) e coeficientes de variação (CV%) das características morfológicas para folhas de *Bauhinia forficata* nos diferentes tratamentos. Massa seca e fresca, conteúdo de água, área foliar e área específica foliar, n=17; densidades de estômatos, tricomas e cristais, espessuras foliares, n=12; concentração de clorofila, n=6. Letras diferentes para mesma variável representam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos (Tukey, p<0,05). 77

## RESUMO

Modificações morfoanatômicas nas folhas de *Mikania glomerata* Spreng. e *Bauhinia forficata* Link. associadas a erva mate foram investigadas em diferentes regimes de luminosidade, resultantes de tipos diferenciados de cobertura vegetal, ocorrentes na Fazenda Capão Bonito, Município de Castro, PR. Este estudo buscou subsidiar os produtores na escolha da melhor condição de luz para plantio destas espécies medicinais, gerando informações para avaliação do potencial alternativo destas na recomposição e manejo do subosque da área de estudo. A região onde foi instalado o experimento era coberta, originalmente, pela Floresta Ombrófila Mista. Mudanças das espécies foram plantadas em: áreas de campo, meia sombra e bosque (respectivamente com 100%, 26,4% e 13,8% de intensidade luminosa). Após dois anos de experimento, folhas de *M. glomerata* foram coletadas em cada um dos tratamentos e folhas de *B. forficata* foram coletadas apenas em campo e bosque, sendo analisados: massa fresca e seca foliar (g), conteúdo de água (g), área foliar (cm<sup>2</sup>), área específica foliar (cm<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>), densidade de estômatos, tricomas e cristais (nº.mm<sup>-2</sup>), espessura do limbo e tecidos foliares, incluindo pecíolo (µm), teor de clorofila (nmol.cm<sup>-2</sup>) e anatomia foliar. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Os maiores valores médios para massa fresca e seca foliar foram encontrados para *M. glomerata* no tratamento bosque e não variaram para *B. forficata*, ao passo que área foliar e área específica foliar apresentaram os maiores valores médios para ambas as espécies nesta condição de luz. Densidade estomática e de tricomas, espessura do limbo e tecidos do mesófilo variaram inversamente com o grau de sombreamento tanto para *M. glomerata* quanto para *B. forficata*, apresentando maiores valores no tratamento campo. Não houve variações qualitativas, no entanto cristais observados em *B. forficata* foram quantificados, ocorrendo com mais frequência no tratamento bosque. Os maiores valores médios de área e peso seco foliar observados sugerem uma maior produtividade de massa seca nas condições mais sombreadas de cultivo destas espécies.

**Palavras-chave:** *Mikania glomerata*, *Bauhinia forficata*, erva-mate, morfologia foliar, anatomia foliar, intensidade luminosa, espécies medicinais.



## 1 INTRODUÇÃO

Este trabalho de dissertação faz parte de um projeto maior, denominado “Consórcios florestais – análise do desenvolvimento de plantas de erva-mate e de espécies nativas medicinais em reflorestamentos com diferentes condições de luminosidade”, o qual conta com a participação de uma equipe multidisciplinar, envolvendo o Departamento de Botânica, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola da Universidade Federal do Paraná, além de outras instituições. Neste, estão sendo estudadas em experimento de campo quatro espécies medicinais associadas à erva-mate (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. - Celastraceae, *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke -Verbenaceae, *Mikania glomerata* Spreng. – Asteraceae e *Bauhinia forficata* Link - Leguminosae), com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes intensidades de luz sobre estas espécies, gerando dessa forma informações que subsidiem uma melhora na qualidade da produção da erva-mate em consórcio com espécies medicinais e contribuam para avaliação do potencial destas espécies como alternativa para recomposição dos subosques de Floresta Ombrófila Mista (Floresta com Araucárias), onde se encontra instalado o experimento. Foi proposto, sob este contexto, um estudo mais aprofundado da estrutura foliar de *M. glomerata* Spreng (Asateraceae) e *B. forficata* Link (Leguminosae) (Figuras 1 a 4).

*Ilex paraguariensis* St.Hil. (Aquifoliaceae) é uma espécie vegetal conhecida popularmente como erva-mate, cuja distribuição geográfica se mostra endêmica do Continente Americano, entre as latitudes de 21° e 30°S e longitude entre 48°38' e 56°10'W (DA CROCE *et al*, 1994). O Estado do Paraná possui vínculos históricos com a cultura de erva-mate, sendo que na Região Sul, esta constitui uma das

principais fontes de emprego e renda, especialmente para pequenos e médios agricultores, onde rende em torno de R\$ 150 milhões anuais aos produtores, em mais de 180 mil propriedades agrícolas (DEDECEK & RODIGHERI, 1999). No entanto, o tempo de espera em cultivares plantados de erva-mate até que esta atinja o porte para colheita é longo, o que torna oneroso para o produtor a manutenção desta área, teoricamente improdutiva à curto prazo. Diante deste obstáculo frente ao retorno do capital investido, surge como opção para o produtor o manejo de outra cultura anual ou semestral associada à erva mate, obtendo-se dessa forma uma alternativa de renda onde as espécies consorciadas à produção da erva-mate podem garantir um melhor aproveitamento da propriedade agrícola.

Estudos sobre o consórcio de erva-mate com outras espécies têm gerado controvérsias em relação aos benefícios e prejuízos (DEDECEK & RODIGHERI, 1999). Avaliando diferentes sistemas de consórcio, variando em espaçamentos, arranjos e densidades de plantas, NADAL (1997) obteve diferentes resultados em função do sistema e cultura adotados, onde os que apresentaram maior Taxa Interna de Retorno (critério que reflete a rentabilidade do capital investido) foram sistemas de milho e feijão respectivamente, com a ressalva de que qualquer recomendação econômica no setor agrícola deve levar em consideração a oferta, demanda e preços do momento. Isso, conseqüentemente, sugere uma maior rentabilidade do consórcio quanto maior o valor agregado da cultura associada.

Assim, destaca-se a utilização de plantas medicinais como recurso terapêutico alternativo, o qual tem ganhado destaque em nosso país por questões sociais, econômicas, culturais e pela busca de terapias complementares e substitutivas (CÚNICO, 1997). TOLEDO (2004) menciona diversos fatores que contribuíram para o aumento na utilização destes recursos no Brasil, como origem

cultural a partir de grupos indígenas, assimilação de conhecimentos trazidos pelos escravos e imigrantes, crise econômica, alto custo de medicamentos industrializados, tendência popular ao uso de produtos naturais. Aproximadamente 25% dos fármacos empregados atualmente nos países industrializados advém direta ou indiretamente de produtos naturais, especialmente plantas (YUNES e CECHINEL FILHO, 2001). Neste sentido, o consórcio de espécies medicinais nativas do Paraná com a erva-mate, para fins de produção, apresentaria implicações diversas no cenário de produção atual: poderia contribuir para a manutenção dos custos do produtor em uma fase inicial do erval, atuar como obtenção de renda alternativa para o pequeno produtor, o qual atenderia em parte à demanda do mercado e poderia auxiliar, conseqüentemente, a reduzir o impacto do extrativismo sobre as plantas medicinais nativas do estado do Paraná. Para o mercado, uma fonte segura de matéria prima oriunda de um regime de plantio permite um melhor controle de qualidade na fabricação da droga vegetal. Da mesma forma, a utilização de algumas destas espécies para reflorestamento de áreas improdutivas de fazendas pode colaborar para a recuperação e recomposição do bosque nativo, permitindo ainda a possibilidade de um manejo de cultivo.

Por outro lado, para a industrialização de um medicamento fitoterápico faz-se necessário um levantamento completo da planta que se deseja utilizar, bem como, investigar alguns fatores que influenciem na vida do vegetal e possam gerar diferenças em sua morfologia ou composição, como temperatura, umidade, tipo de solo, altitude, estágio de desenvolvimento, entre outros (TOLEDO, 2004). No que se refere aos plantios de erva-mate, estes podem dar-se sob várias condições: em áreas de campo, onde está ausente a vegetação arbustiva e predomina o sol pleno; em áreas de capoeira ou de mata pouco densa, cuja situação luminosa é de meia-

sombra; ou em áreas de bosque e de adensamento de espécies, onde há, portanto, maior sombreamento. Para cada uma destas situações é preciso determinar o efeito destes micro-ambientes, onde a luz consiste na principal variável sobre o desenvolvimento das espécies nativas de interesse. No entanto, cada espécie possui limitações estruturais peculiares em sua plasticidade morfológica (TILMAN, 1988), o que interfere conseqüentemente em sua capacidade de resposta à alterações em variáveis ambientais.

Com destaque na medicina popular e distribuição na Região Sul, encontram-se o guaco (*M. glomerata* Spreng.) e a pata-de-vaca (*B. forficata* Link). Estas espécies, além das importantes propriedades de interesse econômico que possuem, encontram-se bem difundidas no mercado e na medicina popular, apresentando as folhas como órgão responsável pela atividade medicinal e utilizadas como objeto de manufaturamento para produção comercial. Portanto, torna-se importante analisar para estas espécies os efeitos dos diferentes níveis de luminosidade sobre a estrutura anatômica e morfológica da folhas.

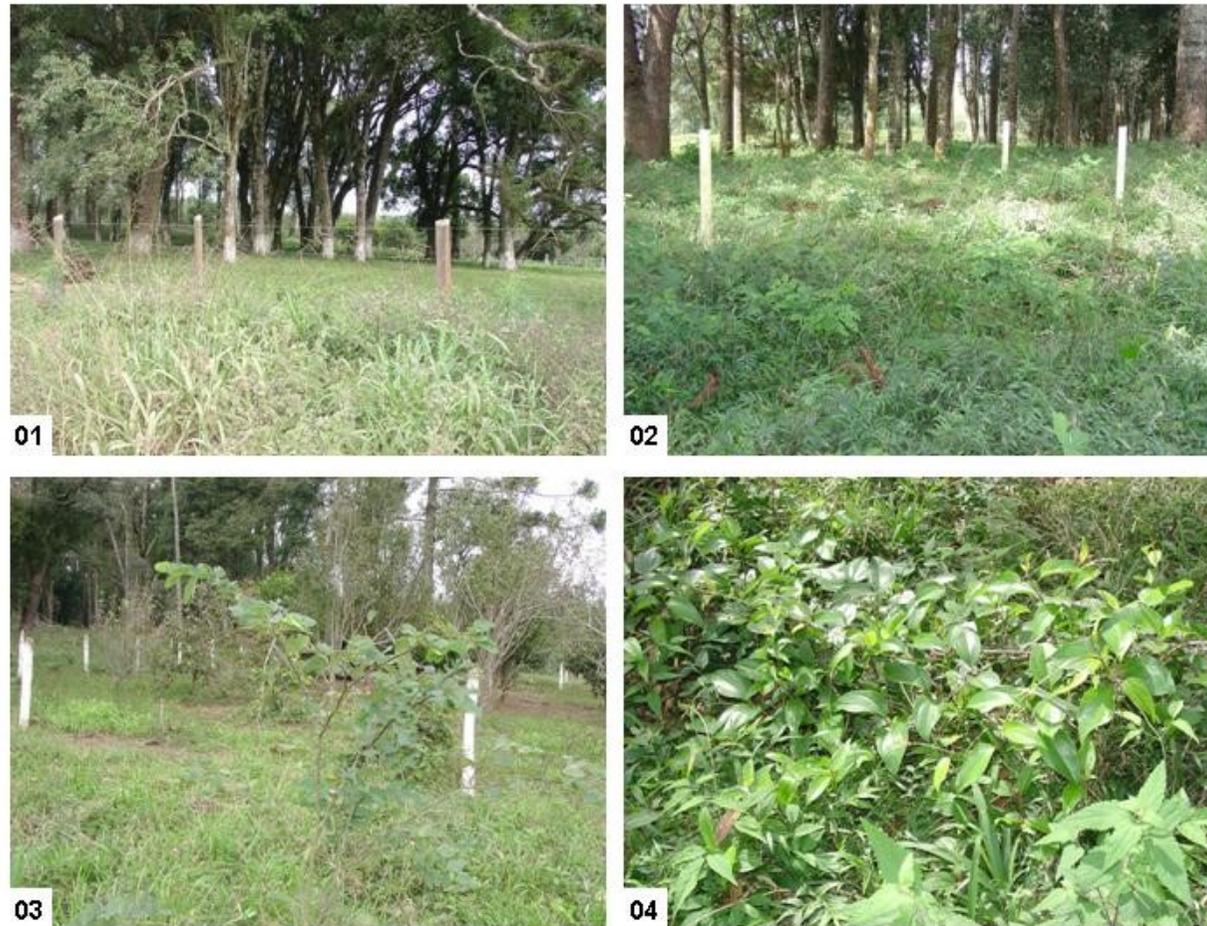
Na seqüência são apresentados os resultados obtidos para estas espécies na forma de dois capítulos, onde cada um corresponde a um artigo científico. O artigo sobre *Mikania glomerata* está formatado segundo as normas de publicação da Revista Brasileira de Botânica e o artigo sobre *Bauhinia forficata* segundo as normas da revista Hoenea.

## 2 OBJETIVOS

Descrever e comparar a estrutura foliar de *Mikania glomerata* Spreng. e *Bauhinia forficata* Link sob três regimes distintos de luz: área de campo (sol pleno), área de mata pouco densa ou subosque (meia-sombra) e área de bosque (sombra).

Gerar subsídios que auxiliem o produtor na escolha do melhor condição de intensidade luminosa em que *Mikania glomerata* e *Bauhinia forficata* se estabelecem.

Contribuir com informações que ajudem na avaliação das espécies medicinais em questão como alternativa potencial para recomposição e manejo do subosque da Floresta Ombrófila Mista.



Figuras 1 a 4: Local do experimento instalado na fazenda Capão Bonito, Município de Castro. 1. Em primeiro plano área de campo e ao fundo área de bosque; 2. Em primeiro plano área de meia sombra, apresentando sombreamento parcial dos tratamentos e ao fundo área de bosque com maior grau de sombreamento por cobertura vegetal; 3. Muda de *Bauhinia forficata* Link. em tratamento campo; 4. Detalhe de *Mikania glomerata* Spreng. em tratamento campo.

**Variação na estrutura foliar de *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) sob diferentes condições de luminosidade**

ARI ESPINDOLA JUNIOR<sup>1</sup>; MARIA REGINA TORRES BOEGER<sup>2</sup>; AGENOR MACCARI JÚNIOR<sup>3</sup>; CARLOS BRUNO REISSMANN<sup>3</sup>; FERNANDA LESSA RICKLI<sup>4</sup>

**ABSTRACT** – (Variation on leaf structure of *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) under different light conditions). Modifications in the leaf structure of *Mikania glomerata* Spreng. were investigated in distinct light regimes (open field, half-shade; understorey; 100%, 26,4% e 13,8% of light intensity, respectively) resulting from different vegetational types at the Municipality of Castro, PR (25°50'64"S e 49°43'69"W), an area of "Floresta Ombrófila Mista" (Araucaria Forest). This study was designed to orient medicinal-plant producers to choose the best light condition for planting, and to evaluate the potential use of medicinal species as an alternative to restore and manage the understorey. After two years of the experiment, thirty seven leaves were collected from the three treatments, for which the following parameters were analyzed: fresh and dry leaf mass, water content, leaf area, stomata and trichome densities, lamina and petiole thickness, chlorophyll concentration. Leaf anatomy of these plants was described. The analysis of variance (ANOVA), correlation, and the analysis of the principal components (PCA) were utilized to differentiate the morphological characteristics among the treatments. The higher mean values of fresh and dry mass, water content, leaf area foliar and specific leaf area occurred in the leaves of the understorey treatment, while the stomata and trichome densities, and lamina thickness presented higher values in leaves of open-field treatment. The PCA showed that the leaves of understorey treatment formed an isolated group from the other treatments, for the analyzed characters. The higher mean values of

---

1. Curso de Pós-Graduação em Botânica, SCB, UFPR Caixa Postal 19031, 81531.990, Curitiba, PR

2. Departamento de Botânica, SCB, UFPR Caixa Postal 19031, 81531.990, Curitiba, P; autor para correspondência, e-mail: rboeger@ufpr.Br.

3. Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, SCA, Rua dos Funcionários 1540, 80.035.090, Curitiba, PR

4. Acadêmica do curso de Agronomia, UEPG, Ponta Grossa, PR

leaf area and dry mass suggest a higher productivity of dry biomass on more shaded conditions of the cultivation of this species, such as the understory treatment.

Key-words: *Mikania glomerata*, leaf morphology, light, Floresta Ombrófila Mista, medicinal plants

**RESUMO** - (Variação na estrutura foliar de *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) sob diferentes condições de luminosidade). As modificações estruturais foliares de *Mikania glomerata* Spreng. foram investigadas em distintas condições de luminosidade (campo, meia-sombra e bosque; 100%, 26,4% e 13,8% de intensidade luminosa, respectivamente) resultantes de diferentes tipos de coberturas vegetacionais no Município de Castro, PR (25°50'64"S e 49°43'69"W), numa região de Floresta Ombrófila Mista (Floresta com Araucária). Este estudo buscou subsidiar os produtores de plantas medicinais na escolha da melhor condição de luz para plantio, gerando informações para avaliação do seu potencial alternativo na recomposição e manejo do subosque da área. Após dois anos de experimento, 37 folhas foram coletadas nos três tratamentos, sendo analisados: massa fresca e seca foliar, conteúdo de água, área foliar, área específica foliar, densidade de estômatos, tricomas, espessura do limbo e pecíolo, concentração de clorofila e descrição da anatomia foliar. A análise de variância (ANOVA), correlação e análise de principal componente (PCA) foram utilizadas para diferenciar as características morfológicas entre os tratamentos. Os maiores valores médios de massa fresca e seca foliar, conteúdo de água, área foliar e área específica foliar ocorreram nas folhas do tratamento bosque, enquanto que a densidade estomática, de tricomas e espessura do limbo apresentaram maiores valores nas folhas do tratamento campo. O PCA evidenciou que as folhas do tratamento bosque formaram um grupo isolado dos demais tratamentos, para as características analisadas. Os maiores valores médios de área e massa seca foliar sugerem uma maior produtividade de massa seca nas condições mais sombreadas de cultivo desta espécie, como observado no tratamento bosque.

Palavras-chave - *Mikania glomerata*, morfologia foliar, intensidade luminosa, plantas medicinais.

## INTRODUÇÃO

A cultura de *Ilex paraguariensis* St.Hil. (Aquifoliaceae), conhecida popularmente como erva mate, possui vínculos históricos com Estado do Paraná (Brasil), sendo que na Região Sul esta constitui uma das principais fontes de emprego e renda, especialmente para pequenos e médios agricultores (Dedecek & Rodigheri 1999). No entanto, o tempo de espera para cultivares plantados atingirem o porte para colheita é longo, o que torna oneroso para o produtor a manutenção da área de cultivo em curto prazo. Uma alternativa para este problema é o consórcio de culturas de alto valor agregado com os ervais. No cenário atual, destaca-se a utilização de plantas medicinais como recurso terapêutico alternativo, o qual tem recebido destaque no sul do Brasil por questões sociais, econômicas, culturais e pela busca de terapias complementares e substitutivas (Cúnico 1997, Milaneze-Gutierrez *et al.* 2003), o que as torna uma boa opção para o produtor.

No entanto, para a industrialização e implantação de padrões de qualidade para um medicamento fitoterápico faz-se necessário um estudo completo da planta que se deseja utilizar, bem como, investigar alguns fatores ambientais que influenciem no crescimento desta espécie, avaliando as diferenças em sua morfologia ou composição, como temperatura, umidade, tipo de solo, altitude e estágio de desenvolvimento, entre outros (Milaneze-Gutierrez *et al.* 2003, Toledo 2004). Os fatores ambientais também interferem diretamente na produção de massa verde e apresentam relação direta com a prática de cultivo adotada.

A luz, um dos principais fatores do ambiente físico, age de forma isolada ou conjunta no controle do desenvolvimento das plantas, interferindo no crescimento por meio do processo fotossintético e na diferenciação durante a morfogênese (Castro *et al.* 2003). Sua ação pode ser avaliada em termos quantitativos (intensidade luminosa ou densidade de fluxo de fótons), qualitativo (espectro da radiação eletromagnética azul e vermelha) e duração (fotoperíodo) (Castro *et al.* 2003).

Vários estudos, utilizando as características morfológicas foliares sob diferentes intensidades luminosas (Boeger *et al.* 1998, Mendes *et al.* 2001, Campos & Uchida 2002, Morais *et al.* 2004, Givnish *et al.* 2004, Montanari *et al.* 2004), constataram modificações na espessura da folha em consequência do número de estratos que compõem o parênquima paliádico, na densidade estomática, pubescência, espessura da cutícula, área foliar, massa seca, entre outras. Plantas de interesse comercial como *Coffea arabica* (Miranda *et al.* 1999, Morais *et al.* 2004), *Piper spidinervium* (Santiago *et al.* 2001), *Euterpe edulis* (Nakazono *et al.* 2001, Illenseer & Paulilo 2002), *Bouchea fluminensis* (Milaneze-Gutierrez *et al.* 2003) também já foram estudadas sob este mesmo enfoque, fornecendo informações importantes sobre a ação da variação da luz na estrutura foliar, auxiliando na escolha dos regimes de plantio mais adequados para otimizar a produção em cultivo. No entanto, a resposta das plantas frente a condição de luz não é uniforme (Givnish 1988)

*Mikania glomerata* é um subarbusto de hábito volúvel, com uso medicinal amplamente difundido na Região Sul do Brasil, ocorrendo em beira de mata e interior de mata (Ritter & Waechter 2004). Apresenta ramos lenhosos, cilíndricos, com folhas pecioladas, codiformes-deltóides, agudas no ápice e curto-cordiformes na base (Pio 1984), encerrando propriedades medicinais, onde a partir do extrato hidroalcoólico das folhas evidencia-se atividade anti-inflamatória (Fierro *et al.* 1999), efeito inibitório da musculatura intestinal e uterina e atividade broncodilatadora devido a cumarina (Celeghini *et al.* 2001).

Este estudo faz parte de um projeto maior, o qual envolve o crescimento de várias espécies medicinais nativas da região, consorciadas à erva-mate sob três condições de luminosidade distintas, representadas por diferentes coberturas vegetacionais. Os dados aqui apresentados mostram as alterações estruturais das folhas de *M. glomerata* nestes tratamentos. Informações sobre a variação da morfologia foliar em diferentes regimes de luz com espécies medicinais nativas, além de contribuir para o delineamento de métodos de cultivo, podem auxiliar na avaliação da viabilidade de utilização destas em reflorestamento de áreas improdutivas de fazendas, fomentando ações de recuperação e recomposição do subosque nativo ou iniciativas de manejo de cultivo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado na Fazenda Capão Bonito (25°50'64"S e 49°43'69"W), Município de Castro, Estado do Paraná (Brasil). O local apresenta diferentes tipos de cobertura vegetal, ocorrendo áreas de campo, mata nativa, capoeira e reflorestamento por *Pinus* sp. A área de estudo localiza-se no Primeiro Planalto e apresenta temperatura média anual de 16,3°C, sendo o mês mais quente 20,1°C, e o mês mais frio 11,7°C, com máxima média de 23,7°C. O mês mais chuvoso é janeiro, com 200,1 mm e o mês menos chuvoso é julho, com 80 mm, com precipitação anual de 1.469,1 mm. A região é climaticamente caracterizada como Cfb: clima quente-temperado, sempre úmido de acordo com a classificação de Koeppen (Maack 2002).

Mudas de *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) provenientes da indústria CHÁMEL® foram plantadas em covas abertas com dimensões de 0,30 x 0,30 x 0,30 m, seguindo espaçamento 1,5 metros entre as plantas e mantidas em condições naturais. Parcelas e locais de plantio foram selecionadas e demarcadas com estacas de madeira, delimitando três tratamentos distintos com nove mudas de cada espécie (Rickli *et al.* 2003): área de campo (sol pleno) onde predomina vegetação herbácea, com 100% de intensidade luminosa; área de vegetação nativa pouco densa (tratamento meia-sombra) onde predomina floresta nativa pouco densa com 26,4% de intensidade luminosa e área de bosque (sombra) onde a floresta nativa está mais densa, com 13,8% de intensidade luminosa. Maiores detalhes do experimento são descritos em Rickli *et al.* (2003).

A análise de solo foi realizada por meio de tradagem de amostras com trado tipo holandês em cada bloco para posterior análise de características físicas e químicas no Laboratório de Química e Fertilidade do solo do DSEA – UFPR.

Folhas de *M. glomerata* foram coletadas em todos os blocos, onde as amostras de cada bloco foram agrupadas para compor os três tratamentos (amostragem mista), totalizando trinta e uma folhas totalmente expandidas em cada uma das condições de luz (campo, meia-sombra e bosque), selecionadas entre 3° e 4° nó no sentido ápice-base.

Dezenove folhas de *M. glomerata* por tratamento foram umedecidas e acondicionadas em sacos plásticos para mensuração de suas massas frescas em balança analítica. Posteriormente, estas folhas foram prensadas em papel jornal e desidratadas em estufa a 50°C, até atingirem massa constante para a mensuração de suas respectivas massas secas. O conteúdo de água da folha foi calculado pela diferença entre massa fresca e seca foliar. Das folhas secas, a área foliar foi estimada utilizando-se a imagem digitalizada em scanner de mesa acoplado à computador, com auxílio do programa SIGMASCAN-PRO Versão 5.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 1995). A partir dos dados de área e massa seca foliar foi estimada a área específica foliar  $AEF = \text{área foliar (cm}^2\text{)} / \text{massa seca (g)}$ , (Witkowski & Lamont 1991).

As densidades estomática e de tricomas foram calculadas utilizando-se a modelagem com esmalte incolor no terço médio foliar. Moldes epidérmicos foram montados em lâmina e lamínula e as densidades foram determinadas através da contagem de estômatos e tricomas situados em 19 campos de uma área de 1mm<sup>2</sup>.

Doze amostras de terço médio foliar por tratamento foram coletadas para mensuração da espessura dos tecidos, descrição e análise anatômica, sendo estas fixadas em FAA 70 (etanol 70%, formaldeído e ácido acético 18:1:1 v/v) (Johansen 1940) e conservadas em álcool 70%. Adicionalmente, seis amostras de pecíolo por tratamento foram também coletadas e fixadas em FAA 70 para mensuração do diâmetro menor e maior, espessuras dos tecidos de sustentação e descrição anatômica. As mensurações da espessura do limbo e dos tecidos foram realizadas em microscópio óptico provido de escala micrometrada.

Para descrição anatômica, secções paradérmicas foram obtidas à mão livre, coradas com azul de toluidina 0,5% e montadas entre lâmina e lamínula, com gelatina glicerinada. Secções transversais do terço médio foliar foram obtidas após desidratação das amostras em série alcoólica-etílica crescente e inclusão do material em glicolmetacrilato (GMA), seguindo as técnicas convencionais para glicolmetacrilato (Feder & O'Brien 1968) e recomendações do fabricante (LEIKA®). Posteriormente lâminas permanentes foram confeccionadas, coradas com fuccina e azul

de astra (Alves de Brito & Alquini 1996) e vedadas em meio de montagem. Demais técnicas de coloração foram testadas, como reagentes para detecção amido, compostos fenólicos e lipídios (lugol, cloreto férrico e Sudam III, respectivamente) e coloração metacromática (azul de toluidina).

Para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), o material foi fixado em FAA 70, desidratado em série etanólica crescente até álcool absoluto. Após esta etapa, foi realizado o ponto crítico em equipamento Baltec CPD 030 Critical Point Dryer e metalização com ouro em metalizador FL9496 Balzers SCD 030. As fotomicrografias foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL JSM – 6360 LV no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR. Microanálise por dispersão de raio X (EDS) foi realizada para quantificar concentração de Silício na folha, em amostras analisadas em microscópio eletrônico de varredura, à baixo vácuo.

Amostras de seis folhas por tratamento foram embaladas no local de coleta em papel alumínio, acondicionadas em caixa de isopor com gelo e em seguida transportadas para o laboratório. Para a quantificação dos pigmentos foliares (clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total) foi efetuada a extração com acetona aquosa 80% fria, centrifugação do extrato em 1500 rpm e leitura de absorbância no espectrofotômetro Hitachi modelo U-2001 (Hitachi, Inc., São Francisco, Ca, USA). Para obtenção dos valores de concentração de clorofila aplicou-se nos resultados o coeficiente de extinção determinado por Porra *et al.* (1989).

Para todas as variáveis quantitativas foram calculadas as médias e os respectivos desvios padrão. Para a análise dos tratamentos foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para comparar as médias das características morfológicas. A homogeneidade das variâncias foi testada pelo teste de Bartlett, com auxílio do programa Statistica versão 6.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA 1998). Nos casos em que as variâncias não foram homogêneas foi efetuada transformação dos dados. As características morfológicas foram correlacionadas entre si em função dos tratamentos ( $p < 0,05$ ) por meio do programa STATISTICA e o grau de correlação ( $r^2$ ) foi obtido de acordo com o proposto pelo STATISTICS PRIMER (Heffner Media Group Inc., 2002). A análise do componente principal (PCA) foi efetuada, utilizando as características morfológicas observadas, buscando no conjunto de

dados encontrados, o comportamento geral dos tratamentos, de acordo com o proposto por Moita Neto & Moita (1998), com auxílio do programa PAST, versão 1.34 (Hammer *et al.* 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O solo do local de estudo classifica-se como um cambissolo áplico distrófico (EMBRAPA 1999), apresentando alta relação silte-argila, motivo pelo qual pode-se considerar este em processo de formação e liberação de nutrientes a partir da intemperização do silte. É considerado distrófico para critérios agronômicos de produção, que geralmente envolvem espécies exóticas, sendo, entretanto, bem qualificado para as espécies nativas da região. A análise de fertilidade (Tabela 1) evidenciou pH muito baixo, assim como os níveis de Cálcio e Magnésio. Os valores obtidos para Potássio foram suficientes no tratamento campo e baixos para os tratamentos meia sombra e bosque quando comparados com os tabelados (CQFS SC/RS 2004), entretanto, dentro dos padrões para a região. Contudo, as taxas de Fósforo observadas podem ser limitantes e as de Alumínio muito altas (Tomé Jr. 1997), com a ressalva de que para espécies nativas os efeitos destas concentrações podem não ser nocivos, devido a grande quantidade de água e matéria orgânica no solo. A concentração de Nitrogênio foi estimada a partir da quantificação de matéria orgânica no solo, estando satisfatória.

Os valores médios de massa fresca e seca foliares, conteúdo de água, área foliar, área específica foliar (AEF) diferiram estatisticamente entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) e foram maiores no tratamento bosque, enquanto que a densidade de estômatos e tricomas respondeu inversamente, sendo os maiores valores médios obtidos no tratamento campo. Estas características encontram-se diretamente relacionadas entre si e podem, juntamente com a espessura foliar, determinar a quantidade de massa seca final obtida a partir das folhas.

Os valores médios de massa fresca e seca foliar foram 125,1% e 74% maiores no tratamento bosque que no tratamento campo, respectivamente. Da mesma forma, o conteúdo de água foliar apresentou valores médios em torno de 133% maiores no tratamento bosque quando comparado com o tratamento campo (Tabela 2). Apesar desta última variável sugerir que boa parte

da massa foliar no tratamento bosque pode estar relacionada à quantidade de água, o valor obtido a partir da relação entre conteúdo de água e unidade de área não estabelece diferença entre os tratamentos de luz ( $p > 0,05$ ), o que indica que o maior conteúdo de água observado no tratamento bosque pode ser explicado provavelmente pela maior área foliar.

A área foliar apresentou uma correlação muito alta e positiva com as seguintes características: massa fresca ( $r^2=0,98$ ,  $p < 0,05$ ), massa seca ( $r^2=0,89$ ;  $p < 0,05$ ), conteúdo de água ( $r^2=0,97$ ;  $p < 0,05$ ). Dessa forma, é possível inferir a partir dos valores médios de espessuras foliares, os quais diferem entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), que os maiores valores médios de espessura do limbo no tratamento campo parecem não interferir no conteúdo de água por unidade de área. Para Meziane & Shipley (1999) as modificações no mesofilo que alterem os espaços intercelulares podem não refletir no conteúdo de água foliar, entretanto, estas alterações apresentam relações com a densidade de tecidos e a espessura foliar. Porém, espécies de ambientes sombreados e com folhas delgadas tendem a ter menor densidade de tecidos e maior conteúdo de água (Meziane & Shipley 1999).

Tecidos como colênquima podem também influenciar no conteúdo de água final, pois suas paredes ricas em celulose apresentam alta capacidade de retenção de água, ao contrário de tecidos com parede secundária rica em lignina, como o esclerênquima (Mauseth 1988). No entanto, em *M. glomerata*, a ausência de tecidos lignificados contrapõe-se à presença de uma bainha parenquimática nos feixes vasculares e tecidos colenquimáticos na nervura central e pecíolo, relacionados respectivamente ao transporte hídrico dos feixes e sustentação na região da nervura central (Fahn 1990). A maior área foliar no tratamento bosque parece explicar os maiores valores de massa e conteúdo de água neste tratamento, corroborando a correlação positiva encontrada entre estas variáveis foliares.

A área foliar e a área específica foliar (AEF) também apresentaram maiores valores médios diretamente associados ao aumento do nível de sombreamento (tabela 2), com as folhas de bosque diferindo respectivamente 131,9% e 134,6% do tratamento campo. Uma das maneiras que a

planta pode aumentar a interceptação total da luz é através do incremento da área foliar total (Niinemets & Fleck 2002). A maior área foliar em ambientes mais sombreados oferece vantagens para a planta na captação de luz, pois proporciona uma maior superfície sujeita à interceptação dos raios luminosos. Já uma menor área foliar representa uma menor superfície exposta ao sol, o que torna a planta como um todo menos sujeita ao excesso de transpiração e elevação da temperatura, sem comprometer a fotossíntese, pois a luz é um recurso abundante e podem promover incrementos na espessura dos tecidos fotossintéticos (Klich 2000, Bragg & Westoby 2002, Silva *et al.* 2005).

Modificações da área foliar em função da intensidade luminosa já foram observadas em diferentes espécies, geralmente com maiores valores associados à condições de maior sombreamento (Fretz & Dunham 1972, Nobel 1976, Medri & Lleras 1979, Marques *et al.* 1999, Meziane & Shipley 1999, Klich *et al.* 2000, Milaneze-Gutierrez *et al.* 2003). No entanto, algumas espécies podem não apresentar este padrão de resposta. Em *Licaria canella* (Pinto *et al.* 1993), a influência do sombreamento no desenvolvimento de mudas não evidenciou diferenças significativas para área foliar e em diferentes variedades de *Coffea arabica* (Voltan *et al.* 1992) a maior área foliar foi obtida em condições intermediárias de luz.

A alta concentração de silício na região dos tricomas glandulares foi evidenciada nas folhas de todos os tratamentos por meio da difração por raios X (EDS) e pode ser relacionada com a resistência a patógenos ou herbivoria (Silva *et al.* 2005). O significado das múltiplas funções atribuídas à presença de tricomas tectores ou glandulares na superfície foliar depende do ambiente em que ocorrem (Press 1999). Estes relacionam-se à proteção da folha por radiação excessiva em ambientes mais luminosos ou mesmo retenção de nutrientes e reflexão da radiação solar para o interior das células do mesofilo (incremento na captura de luz para a fotossíntese), assim como manutenção da temperatura foliar e perda de água ou resistência a insetos nocivos (Fahmy 1997, Press 1999, Roy *et al.* 1999, Silva *et al.* 2005). O brilho característico das folhas de diversas espécies de Asteraceae pode ser atribuído ao rompimento dos tricomas glandulares que liberam seu conteúdo na superfície foliar (Metckalf & Chalk 1965).

A densidade estomática e de tricomas glandulares (tabela 2) apresentou relação inversa com o grau de sombreamento, obtendo maiores valores médios em campo, diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) em 18,9% e 66,15% dos valores de bosque, respectivamente. O tratamento meia sombra apresentou valores intermediários entre os dois tratamentos, com valores semelhantes para a densidade de estômatos e estatisticamente diferente dos demais tratamentos para a densidade de tricomas ( $p < 0,05$ ). A área foliar e densidades de estômatos e tricomas ( $r^2 = -0,45$  e  $-0,68$ ;  $p < 0,05$  respectivamente) são negativa e moderadamente correlacionadas.

Os maiores valores de densidade estomática também são influenciados pelo aumento da incidência luminosa (Ashton & Berlin 1992, Poole 1996, Roças *et al.* 1997, Castro *et al.* 1998, Klich *et al.* 2000) e representam um maior controle sobre a transpiração, possibilitando reduzir a perda de água com abertura e fechamento dos estômatos, em condições mais favoráveis. (Roças *et al.* 1997, Klich *et al.* 2000). Características como menor número de estômatos, menor espessura do mesofilo e aumento dos espaços intercelulares, como observadas em cafeeiros sob denso sombreamento, estão estreita e negativamente relacionadas ao processo de fotossíntese, ao passo que plantas com altas densidades estomáticas apresentam também maior condutância estomática e taxas fotossintéticas (Voltan *et al.* 1992, Woodward *et al.* 2002, Morais *et al.* 2004).

Os valores médios de clorofila *a*, *b*, total e razão entre clorofila *a/b* não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos (tabela 2), porém, os maiores valores médios de clorofila *a*, total e razão entre clorofila *a/b* foram obtidos no tratamento campo, que apresenta maior intensidade luminosa. Com a atribuição primária de realizar fotossíntese, a folha requer interceptação da luz e acesso ao CO<sub>2</sub> atmosférico, mantendo controle sobre a perda de água (Evans 1999). Existe uma forte associação entre espessura da folha e taxa de saturação da fotossíntese por unidade de área (Smith *et al.* 1997, Oguchi *et al.* 2003), pois um aumento no número de cloroplastos sem o incremento na espessura do mesofilo pode implicar que algumas destas organelas se sobreponham no interior da célula, pouco contribuindo para elevar as taxas fotossintéticas. Quando os cloroplastos ficam aderidos à parede celular assumem posição apropriada

para interceptação dos raios luminosos e recebimento dos suprimentos de CO<sub>2</sub> (Oguchi *et al.* 2003). Isso significa que modificações nas estratégias fotossintéticas não estão associadas necessariamente a maiores ou menores concentrações de clorofila, mas podem sim ser alteradas pela reorganização espacial dos cloroplastos na célula ou tecidos.

Os maiores valores médios de espessura total do limbo e mesofilo (11,9% e 15,3% respectivamente) foram observados nas folhas do tratamento de campo quando comparados com os valores do tratamento bosque (tabela 3). A condição de meia sombra apresentou valores intermediários entre os tratamentos. A maior espessura do limbo associada a menor área foliar representa a manutenção do volume foliar (Ackerly *et al.* 2000, Evans 1999, Smith *et al.* 1997), mantendo a capacidade fotossintética da folha (Chazdon & Kaufmann, 1993). Maiores valores para espessura do limbo em condições de luz mais intensa podem ser resultado do aumento na espessura dos tecidos foliares (Fretz & Dunham 1972, Voltan *et al.* 1992, Roças *et al.* 1997, Marques *et al.* 1999) ou apenas com aumento significativo na espessura do parênquima paliçádico (Ashton & Berlyn 1992, Cao 2000, Castro *et al.* 1998, Roças *et al.* 1997). Adicionalmente, incrementos na espessura da cutícula, camada epidérmica, aumento no número de camadas de tecidos ou de espaços intercelulares também podem ser responsáveis por modificações na espessura final do limbo, como observado em algumas espécies (Araus 1994, Evans 1999, Marques *et al.* 1999, Cao 2000, Klich 2000, Oguchi *et al.* 2003).

A espessura do limbo é correlacionada negativa e moderadamente com massa seca foliar ( $r^2=0,53$ ;  $p<0,05$ ). Isto pode ser explicado pela ausência de tecidos lignificados nas folhas do tratamento campo, que podem sofrer incrementos em função da maior luminosidade, e maiores valores médios de área foliar no tratamento bosque, indicando a importância da área foliar para determinação da biomassa nesta espécie.

As espessuras da epiderme das faces abaxial e adaxial da folha de *M. glomerata* não diferiram significativamente entre os tratamentos ( $p>0,05$ ). Já a espessura da camada de tecido paliçádico foi maior nos tratamentos campo e meia sombra, que diferiram significativamente

( $p < 0,05$ ) do tratamento bosque, apresentando em média valores 10,5% maiores. Da mesma forma, a espessura da camada de parênquima lacunoso obteve valores médios 15,4% maiores no tratamento campo quando comparado com o tratamento bosque (tabela 2).

A razão entre os parênquimas paliçádico e lacunoso não diferiu significativamente entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), evidenciando o incremento proporcional da espessura destes tecidos em função dos tratamentos, contribuindo para as diferenças observadas na espessura do limbo.

Devido à capacidade de propagar a luz para regiões mais internas do mesofilo, várias camadas de parênquima paliçádico geralmente ocorrem associado a folhas mais espessas (Terashima 1995, Vogelmann *et al.* 1996), assim como o maior número de estômatos por unidade de área, que favorecem as trocas gasosas, em condições favoráveis, e garantem aporte de  $\text{CO}_2$  necessário para altas taxas fotossintéticas, típicas de folhas de sol (Givnish 1988).

As alterações encontradas nas folhas em diferentes níveis de luz podem ser também atribuídas a diferentes níveis de reguladores de crescimento (Morais *et al.* 2004). Em culturas primárias de *Zinnia*, a aplicação de doses combinadas de auxina, citoquinina e luz induziram a expansão celular do mesofilo, sendo que luz e citoquinina tiveram um grande efeito sobre a expansão radial das células. O ácido giberélico obteve efeitos iguais na expansão celular em ambos os sentidos e a ação combinada de citoquinina e auxina foi aditiva, indicando que também a expansão celular pode ser induzida por fitorreguladores (Lee *et al.* 2000).

As auxinas, em particular, têm um papel promotor na distensão celular (Taiz & Zeiger 2004) e, devido a uma característica molecular, estas têm também a capacidade de migrar para faces ou regiões menos iluminadas da folha, concentrando-se em regiões mais sombreadas e distendendo as células mais facilmente (Medri & Perez 1979, Morais *et al.* 2004). Como consequência, as folhas de ambientes mais iluminados concentram suas auxinas no mesofilo, em contraste com as folhas de sombra, cujas auxinas estão distribuídas ao longo de todo o limbo, incluindo epidermes (Morais *et al.* 2004). Esta diferença na distribuição das auxinas é, em grande parte, responsável pelas

diferenças estruturais observadas na distensão das células epidérmicas em folhas de sombra (Morais *et al.* 2004).

Os valores médios de diâmetro e comprimento do pecíolo foram maiores (em torno de 20% e 38,4%) e diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) no tratamento bosque quando comparado com o tratamento campo. Da mesma forma, a bainha de colênquima que está disposta internamente a epiderme do pecíolo, também variou significativamente em espessura (para ambas as faces), apresentando os maiores valores no tratamento bosque (74,6% e 32,6% respectivamente) quando comparados com os tratamentos campo e meia-sombra. O número de camadas de colênquima também foi maior em bosque (tabela 4).

O pecíolo tem papel importante no suporte e posicionamento espacial das folhas, na condução de suprimento hídrico necessário e no fluxo da produção fotossintética (Percy & Yang 1998). As propriedades mecânicas do pecíolo podem modificar ao longo do gradiente vertical de luz, promovendo modificações no ângulo de inclinação da lâmina foliar e do pecíolo (Niinemets & Fleck 2002). Considerando que uma das principais funções do pecíolo é a sustentação e orientação da folha, sua organização anatômica e disposição de tecidos têm interação direta com a área e massa foliar que sustenta (Percy & Yang 1998). Assim, os pecíolos das folhas do tratamento bosque, que possuem maior comprimento, diâmetro e incremento dos tecidos de sustentação, estão relacionados aos maiores valores médios de área e peso da lâmina observados neste tratamento. Leeftang *et al.* (1998), estudando *Hydrocotyle vulgaris* L, consideram que o aumento de comprimento do pecíolo só ocorre com o incremento de biomassa deste, por meio de alterações dos tecidos mecânicos ou espessura, uma vez que este investimento é necessário para sustentação do peso da folha. Os mesmos autores ainda mencionam que o crescimento do pecíolo é regulado por estímulos de luz que atingem o limbo, o que pode ser entendido como um indicativo da importância desta estrutura no posicionamento da folha para a fotossíntese.

A análise de principal componente (PCA) evidenciou, com base nas características morfológicas apresentadas, a distinção entre os tratamentos campo e meia sombra em relação ao

tratamento bosque (figura 1). Esta análise mostrou que as folhas do tratamento bosque formam um grupo mais isolado quando comparado com as folhas dos tratamentos campo e meia sombra, para o conjunto de características analisadas. O PCA indicou ainda que PC1, representado principalmente pela área foliar, conteúdo de água e comprimento do pecíolo, explicou 62,5% da variância total (Tabela 4), enquanto que PC2, representado apenas pela espessura total, explicou 13,1% da variância. Juntos, PC1 e PC2 explicaram 75,6% da variância dos dados estudados. PC1 indicou uma distribuição ampla das características morfológicas foliares, ao passo que PC2 exibiu uma distribuição mais estreita do mesmo conjunto de caracteres.

A proximidade entre os valores médios das características morfológicas foliares das plantas dos tratamentos campo e meia-sombra não era esperado, com base nos dados de irradiância dos tratamentos. Os valores próximos de irradiância entre bosque e meia-sombra (13,8 e 26,4% de irradiância respectivamente), embora as duas áreas apresentem uma composição e cobertura vegetal bem diferenciada, sugeriam que as características morfológicas foliares quantitativas apresentariam valores médios próximos entre estes dois tratamentos. Isto pode significar uma baixa tolerância da espécie à radiação solar, pois níveis medianos de luz parecem exercer respostas semelhantes a condições de sol pleno.

Anatomicamente, as folhas de *M. glomerata* caracterizam-se por serem dorsiventrais, com parênquima paliçádico pouco desenvolvido, hipoestomáticas, pecioladas e horizontais em relação ao solo. Em vista frontal, as células epidérmicas da face adaxial apresentam paredes anticlinais sinuosas e espessas (figura 2). A face abaxial é formada por células epidérmicas de paredes anticlinais sinuosas, menos espessas, alongadas longitudinalmente sobre a nervura central, possuindo estômatos anomocíticos (figura 3). Tricomas glandulares sésseis, cuja base é base extremamente reduzida, estão inseridos em depressão na camada epidérmica de ambas as faces. A porção multicelular apresenta leve torção em relação ao eixo de inserção da base, lembrando formato de caracol (figura 4). Este tricoma é típico do gênero *Mikania* Will. (Kato 1997) e de relevante importância para diagnose de alguns táxons dentro do gênero (Oliveira *et al.* 1985). Na

família Asteraceae é comum a presença de tricomas glandulares com base e corpo variando de uni a multicelular, com secreção suficientemente profusa em algumas espécies, conferindo-lhes às folhas aparência brilhante (Metcalfé & Chalk 1965). A presença de tricomas tectores unisseriados pluricelulares e tricomas glandulares com pedicelo multicelular e cutícula estriada diferenciam *M. congesta* de *M. glomerata* (Oliveira *et al.* 1994).

A análise de EDS (análise química por difração de Raio-X) evidenciou uma maior concentração de silício na região dos tricomas glandulares, o que pode ser entendido como um mecanismo para proteção contra herbivoria (Silva *et al.* 2005), associado a natureza química do conteúdo destes.

Em secção transversal, ambas as faces da epiderme são uniestratificadas, semelhantes em espessura, compostas por células de formato tabular, variando de cúbicas a retangulares, com paredes periclinais externas retas e cutícula delgada, enquanto que a porção da nervura central apresenta células epidérmicas isodiamétricas, com formato regular. Na região da base de inserção dos tricomas, destacam-se três células centrais da camada epidérmica, menores e de conteúdo denso, as quais estão ligadas externamente ao tricoma. O pedicelo e a cabeça do tricoma é formado por quatro a cinco células com disposição espiraladas (figura 5).

Uma camada subepidérmica aclorofilada ocorre internamente à epiderme, ausente próximo à nervura central e bordo foliar. De acordo com Oliveira *et al.* (1994) esta camada não ocorre em várias espécies de *Mikania* (*M. congesta*, *M. microleptis*, *M. hookeriana* e *M. smilacina*), mas está presente em *M. hatschbachii*, *M. laevigata*, e *M. confertifissima*, além de *M. glomerata*. Camadas subepidérmicas relacionadas ao acúmulo de água são mencionadas por Metcalfé & Chalk (1965) para Asteraceae. Podem atuar também como barreira para prevenir a transpiração excessiva ou a fotoinibição (Fahn 1990, Feller 1996). Na porção da nervura central, esta camada está ausente, entretanto, quatro a cinco camadas de colênquima angular se posicionam internamente a epiderme.

O mesofilo de *M. glomerata* é heterogêneo, dorsiventral, composto de uma a duas camadas de parênquima paliçádico, discretamente diferenciado (figura 6), caracterizado por células curtas,

pequenas, por vezes irregulares no formato e frouxamente arranjadas. O parênquima lacunoso é bem desenvolvido, com células variando em tamanho e formato. As células do parênquima lacunoso são descritas por Oliveira et al. (1994) como braciiformes, em formato de X e de Y. Estas apresentam grandes espaços intercelulares, interrompidos apenas por feixes vasculares do tipo colateral aberto, geralmente associados a um ducto secretor adaxial, ambos envolvidos por bainha parenquimática. Para alguns autores, a bainha parenquimática da folha pode ser considerada uma endoderme, uma vez que existe uma continuidade dos tecidos entre os órgãos da planta (Menezes et al. 2003). O significado fisiológico da endoderme do feixe pode ser relacionado à eficiência na utilização dos aportes hídricos no interior do mesofilo (Fahn 1990).

O mesofilo de *M. glomerata* não apresentou variação na organização dorsiventral, apenas no número de camadas de cada parênquima clorofiliano entre os tratamentos. Entretanto, alguns autores observaram a variação da organização do mesofilo e utilizaram esta característica como subsídio taxonômico para alguns gêneros (Breitwieser 1993, Breitwieser & Ward 1998), enquanto que outros indicaram que a organização do mesofilo não pode ser utilizada para as espécies do gênero *Richterago*, devido à variação intraespecífica (Melo de Pinna 2004).

Os ductos, por sua vez, podem produzir e liberar substâncias como taninos, óleos essenciais, mucilagens e resinas (Fahn 1990) para combater ou bloquear o avanço de patógenos em direção a tecidos vivos ou proteger de injúrias. Sua proximidade com tecidos de condução pode ser reflexo da necessidade de aportes nutricionais para manutenção das altas taxas metabólicas das células envolvidas. Ductos resiníferos são bastante comuns no caule e raiz de espécies da família Asteraceae, apresentando origem endodérmica, variando em número e tendo relevância para identificação do táxon (Metcalfe & Chalk 1965).

A nervura central da folha não apresentou alterações aparentemente visíveis na sua estrutura entre os tratamentos. Apresenta colênquima interno à epiderme como principal tecido de sustentação. Os feixes vasculares na nervura central são em número de três a quatro, dispostos em

arco e alternados com pequenos ductos secretores esquizógenos, delimitados por quatro a cinco células (figura 7).

O pecíolo é oval quando observado em secção transversal, apresentando uma camada de células epidérmicas pequenas, cúbicas e regulares (figuras 8 e 9), podendo ocorrer tricomas glandulares. Internamente a epiderme, cinco a oito camadas de colênquima angular contínuo, formam uma bainha que delimita a região central. A parede primária do tecido colenquimático apresenta espessamento irregular além de ter alto conteúdo de água. A posição subepidérmica do colênquima associada às características da parede primária confere ao tecido uma alta tensão e resistência ao estresse, ocorrendo em regiões de alongação (Mauseth 1988, Dickson 2000). Este conjunto de características auxilia na maleabilidade do pecíolo, contribuindo com o hábito volúvel da espécie.

Os feixes colaterais, em número de sete a nove, estão dispostos em arco, voltados para a face adaxial, alternando-se com ductos secretores (figura 10), o que indica uma continuidade dos ductos com os demais órgãos da planta. Entretanto, descrições anatômicas para o caule desta espécie em estrutura secundária descrevem câmbio contínuo, tecidos vasculares, parênquimas associados e fístula central, sem mencionar ocorrência de ductos ou canais (Boeger *et al.* 2004).

Os testes microquímicos revelaram a presença de uma cutícula delgada, compostos fenólicos ocorrendo em algumas células do mesofilo, assim como na parede das células do sistema vascular. Amido assimilatório foi observado nos cloroplastos. Não foram observadas diferenças qualitativas entre os tratamentos de luz.

Resumindo, os dados obtidos indicam que os maiores valores médios de massa fresca e seca foliar, conteúdo de água, área foliar e área específica foliar foram encontrados no tratamento bosque, enquanto que a densidade estomática, de tricomas e espessura do limbo apresentaram maiores valores no tratamento campo. As folhas que se desenvolveram no tratamento bosque apresentaram-se como um grupo isolado dos demais tratamentos para as características morfológicas analisadas, evidenciado pela PCA. Os maiores valores médios de área e massa seca

foliar sugerem uma maior produtividade de massa seca nas condições mais sombreadas de cultivo desta espécie, como observado no tratamento bosque. O significado funcional destas características morfológicas e ajustes em sua estruturação está em uma arquitetura foliar apropriada do ponto de vista ecológico. Para o produtor, o desempenho da espécie em cada condição é mais evidenciado pelas taxas fotossintéticas e acúmulo de biomassa, pois interferem na massa verde foliar pretendida, portanto com relevante importância para adoção de técnicas de manejo e ganhos de produtividade.

Agradecimentos- À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Botânica pelo logístico, à CAPES pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor, a Fundação Araucária pelo financiamento do projeto e ao Prof. Dr. Valmiqui Costa Lima, pela identificação do solo e informações pedológicas sobre a região de realização do experimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERLY, D. D., DUDLEY S.A., SULTAN, S.E., SCHMITT, J., COLEMAN, J.S., LINDER, C.R., SANDQUIST, D.R., GEBER, M.A., EVANS, A.S., DAWSON, T.E. & LECHOWICZ, M.J. 2000. The Evolution of Plant Ecophysiological Traits: Recent Advances and Future Directions. *BioScience* 50: 979-995.

ALVES DE BRITO, C.J.F. & ALQUINI, Y. 1996. A new method for staining botanical material embedded in glycol – methacrylate (GMA). *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 39: 949 – 951.

ARAUS, J.L. & HOGAN, K.P. 1994. Leaf structure and patterns of photoinhibition in two neotropical palms in clearings and forest understory during the dry season. *American Journal of Botany* 81: 726-738.

ASTHON, P.M.S. & BERLYN, G.P. 1992. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. *New Phytologist* 121: 587-596.

BOEGER, M.R.T., ALQUINI, Y. & NEGRELLE, R.R.B. 2004. Características anatômicas da região nodal de estacas em diferentes fases de desenvolvimento de Guaco (*Mikania glomerata* Sprengel – Asteraceae) e formação de raízes adventícias. *Revista Brasileira de Plantas medicinais* 6: 1-6.

- BOEGER, M.R.T., ALVES L.C. & NEGRELLE R.R.B. 1998. Variações morfo-anatômicas dos folíolos de *Tapirira guianensis* Aubl. em relação a diferentes estratos da floresta. *Biotemas* 11: 27 – 38.
- BRAGG, J.G. & WESTOBY, M. 2002. Leaf size and foraging for light in a sclerophyll woodland. *Functional ecology* 16: 633-639.
- BREITWEISER, I., & WARD, J.M. 1998. Leaf anatomy of *Raoulia* Hook. f. (Compositae, Gnaphalieae). *Botanical Journal of Linnean Society* 126: 217-235.
- BREITWIESER, I. 1993. Comparative leaf anatomy of New Zealand and Tasmanian Onuleae (Compositae). *Botanical Journal of Linnean Society* 111: 183-209.
- CAMPOS, M.A.A. & UCHIDA, T. 2002. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 281-288.
- CAO, K.F. 2000. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. *Canadian Journal of Botany*, 78: 1245-1253.
- CASTRO, E.M., GAVILANES, M.L., ALVARENGA, A.A., CASTRO, D.M. & GAVILANES, T.O.T. 1998. Aspectos da anatomia foliar de mudas de *Guarea guidones* (L.) Slumer, sob diferentes níveis de sombreamento. *Daphne* 8: 31-35.
- CASTRO, E.M., PINTO, J.E.B.P., ALVARENGA, A.A., LIMA JÚNIOR, E.C., BERTOLUCCI, S.K.V., SILVA FILHO, J.L. & VIEIRA, C.V. 2003. Crescimento e anatomia foliar de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) submetidas a diferentes fotoperíodos. *Ciência e Agrotecnologia* 6: 1293-1300.
- CELEGHINI, R.M.S., VILEGAS, J.H.Y. & LANÇAS, F.M. 1999. Análise quantitativa de cumarina em amostras comerciais de “Guaco” por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 1: 23-28.
- CELEGHINI, R.M.S., VILEGAS, J.H.Y. & LANÇAS, F.M. 2001. Extraction and Quantitative HPLC Analysis of Coumarin in Hydroalcoholic Extracts of *Mikania glomerata* Spreng. ("guaco") Leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 12: pp pp.

CHAZDON, R.L. & KAUFMANN, S. 1993. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation. *Functional Ecology* 7: 385-394.

CQFS SC/RS (Comissão de Química e Fertilidade do solo SC/RS) & SBCS (Sociedade Brasileira de Ciências do Solo – Núcleo Regional Sul). 2004. Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 10º ed, Porto alegre.

CUNICO, M.M. 1997. Estudos preliminares de toxicologia pré-clínica de *Pfaffia* sp. Monografia de especialização, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

DEDECEK, R.A.& RODIGHERI, H.R. 1999. Sistemas de preparo do solo em cultivos anuais intercalados em erva-mate. *Boletim de Pesquisa EMBRAPA Floresta*, 38: 77-88.

DICKSON, W.C. 2000. Integrative plant anatomy. Horcand academy Press, San Diego.

EMBRAPA. 1999. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Rio de Janeiro.

EVANS, J.R. 1999. Leaf anatomy enables more equal access to light and CO<sub>2</sub> between chloroplasts. *New Phytologist* 143: 93-104.

FAHMY, G.M. 1997. Leaf anatomy and its relation to the ecophysiology of some non-succulent desert plants from Egypt. *Arid Environments* 36: 499-525.

FAHN, A. 1990. *Plant Anatomy*. 4. ed. Oxford: Pergamon Press.

FAHN, A. & CUTTER, D. F. 1992. *Xerophytes*. Berlin: Gebrüder Borntraeger-Stuttgart.

FEDER, N. & O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 55: 123-142.

FELLER, I.C. 1996. Effects of nutrient enrichment on leaf anatomy of dwarf *Rhizophora mangle* L. (Red Mangrove). *Biotropica* 28: 13-22.

FIERRO, I.M., SILVA, A.C.B., LOPES, C.S., MOURA, R.S. & BARJA-FIDALGO, C. 1999. Studies on the anti-allergic activity of *Mikania glomerata*. Journal of Ethnopharmacology 66: 19-24.

FRETZ, T.A. & DUNHAM, C. W. 1972. Influence of 3 levels of light intensity on leaf structure, area and color difference in American Holly, *Ilex opaca* Ait. Cv. Miss Helen. Fiton 30: 135-140.

GIVNISH, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. Aust. J. Plant Physiol. 15: 63-92.

GIVNISH, T.J., MONTGOMERY, R.A. & GOLDSTEIN, G. 2004. Adaptive radiation of photosynthetic physiology in the *Hawaiian lobeliads*: light regimes, static light responses, and whole-plant compensation points. American Journal of Botany 91: 228-246.

HAMMER, O., HARPER, D.A.T. & RYAN, P.D. 2001. PAST: Palaeontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4: 9.

ILLENSEER, R. & PAULILO, M.T.S. 2002. Crescimento e eficiência na utilização de nutrientes em plantas jovens de *Euterpe edulis* Mart. sob dois níveis de irradiância, nitrogênio e fósforo. Acta Botânica Brasílica 16: 385-394.

JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. Mc Graw Hill Book, New York.

KATO, E.T.M., OLIVEIRA, F & RODRIGES, R.F.O. 1997. Caracterização farmacognóstica de *Mikania conferta* Gardn. Lecta número especial: 58.

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

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

LEEFLANG, L., DURING, H.K. & WERGER. M.J.A. 1998. The role of petioles in light acquisition by *Hydrocotyle vulgaris* L. in vertical light gradient 117: 235-238.

- MAACK, R. 2002. Geografia física do Estado do Paraná. Imprensa oficial do Paraná, Curitiba.
- MARQUES, A.R., GARCIA, Q.S. & FERNANDES, G.W. 1999. Effects of sun and shade on leaf structure and sclerophylly of *Sebastiania myrtilloides* (Euphorbiaceae) from Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. *Boletim Botânico da Universidade São Paulo* 18: 21-27.
- MAUSETH, J. D. 1988. Plant Anatomy. California: Menlo Park.
- MEDRI, M.E. & PEREZ, E.L. 1979. Ecofisiologia de plantas da Amazônia: anatomia foliar e ecofisiologia de *Bertholletia excelsa* Humb. and Bonpl. (castanha-do-pará). *Acta Amazônica* 9:15-23.
- MEDRI, M.E. & LLERAS, E. 1979. Anatomia foliar e ecofisiologia de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. (Castanha-do-pará) – Lecythidaceae. *Acta Amazônica* 9: 15-23.
- MEDRI, M.E. & LLERAS, E. 1980. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* Müell. Arg. *Acta Amazonica* 10: 463-493.
- MELO DE PINNA, G.F. 2004. Anatomia foliar de *Richterago* Kuntze (Mutisiaeae, Asteraceae). *Acta Botânica Brasílica* 18: 591-600.
- MENDES, M.M.; GAZARINI, L.C. & RODRIGUES, M.L. 2001. Acclimatation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments – effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Environmental and Experimental botany* 45: 165 – 178.
- MENEZES, N. L., SILVA, D.C., PINNA, G.F.A.M. 2003. Folha. In: Beatriz Appezzato-da-Glória; Sandra Maria Carmello-Guerreiro. (Org.). *Anatomia Vegetal*. 1 ed. Viçosa, , v. 1, p. 301-325.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1965. Anatomy of Dicotyledones: Leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. London 2: 782-804.

MEZIANE, D. & SHIPLEY, B. 1999. Interacting determinants of specific leaf area in 22 herbaceous species: effects of irradiance and nutrient availability. *Plant, cell and environment* 22: 447-459.

MILANEZE-GUTIERRE, M.A.; MELLO, J.C.P. & DELAPORTE, R.H. 2003. Efeito da intensidade luminosa sobre a morfo-anatomia foliar de *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae) e sua importância no controle da qualidade da droga vegetal. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 13: 23-33.

MIRANDA, E.M.; PEREIRA, R.C.A.; BERGO, C.L. 1999. Comportamento de seis linhagens de café (*Coffea arabica* L.) em condições de sombreamento e pleno sol no Estado do Acre, Brasil. *Ciência e Agrotecnologia* 23: 62-69.

MOITA NETO, J.M ; MOITA, G.C. 1998. Uma introdução a análise exploratória de dados multivariados. *Química nova* 21: 467-469.

MONTANARI, R.M., SOUSA, L.A., LEITE, M.N., COELHO, A.D.F., VICCINI, L.F. & STEFANINI, M.B. 2004. Plasticidade fenotípica da morfologia externa de *Lippia Alba* (Mill.) N.E.BR. ex Britt. & Wilson (Verbenaceae) em resposta a níveis de luminosidade e adubação. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 6: 96-101.

MORAIS, H., MEDRI, M.E., MARUR, C.J., CARAMORI, P.H., RIBEIRO, A.M.A. & GOMES, J.C. 2004. Modifications on leaf anatomy of *Coffea arabica* caused by shade of Pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47: 863-871.

NAKAZONO, E.M., COSTA, M.C., TSUGI, K.F. & PAULILO, M.T.S. 2001. Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes regimes de luz. *Revista Brasileira Botânica* 24: 173-179.

NIINEMETS, U. & FLECK, S. 2002. Petiole mechanics, leaf inclination, morphology, and investment in support in relation to light availability in the canopy of *Liriodendron tulipifera*. *Oecologia* 132: 21-33.

NOBEL, P. 1976. Photosynthetic rates of sun versus shade leaves of *Hyptis emoryi* Torr. *Physiologia Plantarum* 58: 218-223.

OBERBAUER, S.F. & STRAIN, B.R. 1986. Effects of canopy position and irradiance on the leaf physiology and morphology of *Pentaclethra macroloba* (Mimosaceae). *American Journal of Botany* 73: 409-416.

OGUCHI, R., HIKOSAKA, K. & HIROSE, T. 2003. Does de photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy? *Plant, Cell and Environment* 26: 505-512.

OLIVEIRA, F., AKISUE, G., AKISUE, M.K., MANCINI, B. & CHUMZUM, M. 1985. Morfodiagnose do guaco - *Mikania glomerata* Sprengel – Compositae. *Revista de ciência e Farmacologia* 7: 17-26.

OLIVEIRA, F., SAITO, M.L. & GARCIA, L.O. 1994. Morfologia externa das partes aéreas e anatomia foliar das espécies brasileiras de *Mikania* Willdenow secção *globosae* Robinson – visão farmacognósica. *Lectia* 12: 23-65.

PEARCY, R.W. & YANG, W. 1998. The functional morphology of light capture and carbon gain in the Redwood forest understorey plant *Adenocaulon bicolor* Hook. *Functional Ecology* 12: 543–552.

PINTO, A.M., VARELA, V.P. & BATALHA, L.F.P. 1993. Influência do sombreamento no desenvolvimento de mudas de Louro pirarucu (*Licaria canella* (Meissn.) Kostern). *Acta Amazonica* 23: 397-402.

PIO, M.C. 1984. *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil*. Ed Imprensa Nacional, Rj, v. III, p. 518.

POOLE, I., WEYERS, J.D.B., LAWSON, T. & RAVEN, J.A. 1996. Variation in stomatal density and index: implications for paleoclimatic reconstructions. *Plant cell and environment* 19: 705-712.

POORTER, H. & JONG, R. 1999. A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist* 143: 163-176.

PORRA, R.J., THOMPSON, W.A. & KRIEDMANN, P.E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with

four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 975:384-394.

PRESS, M.C. 1999. The functional significance of leaf structure: a search for generalizations. *New Phytologist* 143: 213-219.

RICKLI, F.L, MACCARI JR, A., MARIANO, J., FERNANDES; J.S.C. & MAZUCHOWSKI, J.Z. 2003. Análise do desenvolvimento de plantas de erva-mate e de espécies nativas medicinais em três diferentes condições de luminosidade. 3º Congresso Sul-Americano da Erva-Mate. Anais.

RITTER, R. M. & WAECHTER, J. L. 2004. Biogeografia do gênero *Mikania* Willd. (Asteraceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Botânica Brasilica* 18: 643-652.

ROÇAS, G., BARROS, C.F. & SCARANO, F.R. 1997. Leaf anatomy plasticity of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rain forest. *Trees* 11: 469-473.

ROY, B.A., STANTON, M.L., & EPPLEY, S.M. 1999. Effects of environmental stress on leaf hair density and consequences for selection. *J. Evol. Biol.* 12: 1089-1103.

SANTIAGO, E.J.A., PINTO, J.E.B.P., CASTRO, E.M., LAMEIRA, O.A., CONCEIÇÃO, H.E.O. & GAVILANES, M.L. 2001. Aspectos da anatomia foliar da Pimenta Longa (*Piper spidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. *Ciências Agrotécnicas* 25: 1035-1042.

SILVA, L.M., ALQUINI, Y. & CAVALLET, V.J. 2005. Inter-relações entre anatomia vegetal e produção vegetal. *Acta Botânica Brasilica* 19: 183-194.

SMITH, W.K., VOGELMANN, T.C., DELUCIA, E.H., BELL, D.T. & SHEPHERD, K.A. 1997. Leaf form and photosynthesis: Do leaf structure and orientation interact to regulate internal light and carbon dioxide? *Bioscience*, Washington, v. 47 (11), p. 785-793.

STATISTICS PRIMER. Correlation. Heffner Media Goup Inc. 2002.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2004. *Fisiologia Vegetal*. 3º. ed. Porto Alegre: Artmed.

TERASHIMA, I. & HIKOSAKA, K. 1995. Comparative ecophysiology of leaf and canopy photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 18: 1111-1128.

TOLEDO, A.C.O. 2004. Estudo morfo-anatômico e fitoquímico, ensaios farmacopéicos e atividade antimicrobiana de órgãos subterrâneos e folha de *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

TOMÉ JUNIOR, J.B. 1997. Manual de interpretação de análise de solo. Livraria e editora agropecuária. 247p.

VOLGELMANN, T. C. NISHIO, J. N. & SMITH, W. K. 1996. Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. *Trends in plant Science* 1: 65-70.

VOLTAN, R.B.Q., FAHL, J.I. & CARELLI, M.L.C. 1992. Variações na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 4: 99-105.

WITKOWSKI, E.T.F. & LAMONT, B.B. 1991. Leaf Specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88: 486-493.

WOODWARD, F.I., LAKE, J.A. & QUICK, W.P. 2002. Stomatal development and CO<sub>2</sub>: ecological consequences. *New Phytologist* 153: 477-484.

Tabela 1: Tipo de vegetação e valores médios das características físico-químicas do solo, obtidas a partir dos três blocos de cada tratamento testado (n = 3).

Table 1. Vegetational type and mean values of the soil physical-chemical characteristics, obtained from the three treatments (n=3).

	Campo	Meia-sombra	Bosque
Tipo de vegetação predominante	Vegetação rasteira e herbácea	Arbóreas nativas, pouco densas	Arbóreas nativas densamente dispostas
pH (CaCl <sub>2</sub> )	3,66	3,66	3,50
Ca <sup>+3</sup> (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	0,53	0,50	0,34
Mg <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	0,39	0,31	0,19
K <sup>+</sup> (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	0,24	0,10	0,10
P (mg.dm <sup>-3</sup> )	3,23	3,00	2,53
M.O. (g.dm <sup>-3</sup> )	60	69	62
m (sat Al <sup>+3</sup> ) %	78,7	82,00	87,00
T (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	15,28	16,18	16,20
Fração de Argila	475	433	541

Tabela 2: Valores médios, respectivos desvios padrão (entre parênteses) e coeficientes de variação (cv%) das características morfológicas (n=19) e concentração de clorofila (n=6) para folhas de *Mikania glomerata* nos diferentes tratamentos. Letras diferentes para mesma variável representam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos testados (Tukey, p<0,05).

Table 2: Mean values, standard deviation (in parenthesis) and coefficient of variation (cv%) of the morphological characteristics (n=19) and chlorophyll concentration (n=6) for leaves of *Mikania glomerata* from the different treatments. Distinct letters for a same variable represent statistically distinct differences among treatments (Tukey, p<0,05).

	Campo	CV%	Meia sombra	CV%	Bosque	CV%
Massa Fresca foliar (g)	1,8 ( $\pm 0,5$ ) C	29,3	2,2 ( $\pm 0,4$ ) B	18,8	4,1 ( $\pm 1,2$ ) A	29,2
Massa Seca foliar (g)	0,27 ( $\pm 0,07$ ) A	26,5	0,29 ( $\pm 0,08$ ) AB	25,7	0,47 ( $\pm 0,13$ ) B	27,9
Conteúdo de água (g)	1,56 ( $\pm 0,47$ ) C	30,3	1,93 ( $\pm 0,36$ ) B	18,8	3,65 ( $\pm 1,08$ ) A	29,5
Área foliar (cm <sup>2</sup> )	39,4 ( $\pm 11,3$ ) C	28,9	50 ( $\pm 9,8$ ) B	19,6	91,3 ( $\pm 21,4$ ) A	23,4
Conteúdo de água / Área foliar (mg.cm <sup>-2</sup> )	39,6 ( $\pm 3,6$ ) A	9,1	38,7 ( $\pm 2,5$ ) A	6,5	39,4 ( $\pm 3,1$ ) A	7,8
Área específica foliar: AEF (cm <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	145,6 ( $\pm 16,3$ ) C	11,2	174,6 ( $\pm 34,1$ ) B	19,6	196 ( $\pm 23,4$ ) A	11,9
Densidade de estômatos abaxial (n <sup>o</sup> .mm <sup>-2</sup> )	147,2 ( $\pm 16,0$ ) A	10,9	141 ( $\pm 11,1$ ) AB	7,9	123,8 ( $\pm 7,8$ ) C	6,3
Densidade de Tricomas abaxial (n <sup>o</sup> .mm <sup>-2</sup> )	4,95 ( $\pm 0,38$ ) A	7,6	3,83 ( $\pm 0,87$ ) B	9,8	2,98 ( $\pm 0,5$ ) C	16,9
Densidade de Tricomas adaxial (n <sup>o</sup> .mm <sup>-2</sup> )	1,92 ( $\pm 0,34$ ) A	17,5	1,38 ( $\pm 0,28$ ) B	20,5	1,44 ( $\pm 0,35$ ) B	24,1
Clorofila <i>a</i> (nmol.cm <sup>-2</sup> )	55,6 ( $\pm 7,1$ ) A	12,7	45,4 ( $\pm 10,3$ ) A	20,7	44,1 ( $\pm 13,5$ ) A	30,5
Clorofila <i>b</i> (nmol.cm <sup>-2</sup> )	27,9 ( $\pm 6,2$ ) A	22,4	23,3 ( $\pm 4,9$ ) A	20,9	27,2 ( $\pm 6,3$ ) A	23,3
Clorofila Total (nmol.cm <sup>-2</sup> )	86,5 ( $\pm 9,6$ ) A	11,5	68,8 ( $\pm 14,0$ ) A	20,4	71,4 ( $\pm 18,1$ ) A	25,4
Razão clorofila <i>a/b</i>	2,07 ( $\pm 0,51$ ) A	24,4	1,97 ( $\pm 0,33$ ) A	16,7	1,63 ( $\pm 0,44$ ) A	26,7

Tabela 3: Valores médios e respectivos desvios padrão (entre parênteses) e coeficientes de variação (cv%) das características anatômicas para folhas de *Mikania glomerata* nos diferentes tratamentos. Espessuras foliares, n=12 e espessuras do pecíolo, n=6. letras diferentes para mesma variável representam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos testados (tukey, p<0,05).

Table 3: Mean values, standard deviation (in parenthesis) and coefficient of variation (cv%) of the morphological characteristics of leaves of *Mikania glomerata* in the different treatments. Leaf thickness, n=12, and petiole thickness, n=6. Distinct letters for a same variable represent statistically distinct differences among treatments (Tukey, p<0,05).

	<b>Campo</b>	<b>CV%</b>	<b>Meia sombra</b>	<b>CV%</b>	<b>Bosque</b>	<b>CV%</b>
Espessuras do limbo						
• Total do limbo (µm)	393,1 (± 54,0) A	13,73	367,1 (± 26,9) AB	7,34	351,4 (± 18,9) B	5,4
• Mesófilo (µm)	345,9 (+ 48,4) A	13,99	311,4 (+ 23,0) AB	7,39	299,9 (+ 20,1)B	6,7
• Parênquima paliçádico (µm)	115,2 (± 6,6) A	5,74	109,5 (± 7,5) A	6,87	101,7 (± 6,1) B	5,9
• Parênquima lacunoso (µm)	228,3 (± 34,6) A	15,16	206,5 (± 32,0) AB	15,52	197,9 (± 17,1) B	8,6
• Epiderme: face Abaxial (µm)	22,6 (± 1,2) A	5,50	24,0 (± 1,9) A	7,86	22,8 (± 1,2) A	5,4
• Epiderme: face Adaxial (µm)	25,4 (± 1,9) A	7,30	25,4 (± 1,9) A	7,30	25,4 (± 1,6) A	6,1
• Razão Paliçádico - Lacunoso	0,51 (± 0,07) A	13,84	0,54 (± 0,08) A	14,12	0,52 (± 0,06) A	12,1
Espessuras do pecíolo						
• Diâmetro Menor (mm)	1,86 (± 0,11) B	6,8	2,00 (± 0,19) B	9,32	2,38 (± 0,16) A	6,6
• Diâmetro Maior (mm)	2,45 (± 0,14) B	5,71	2,30 (± 0,56) AB	2,46	2,76 (± 0,24) A	8,9
• Colênquima Abaxial (µm)	201 (±13) C	6,61	255 (± 20) B	7,80	351 (± 54) A	15,4
• Colênquima Adaxial (µm)	175 (± 14) B	7,86	205 (±23) B	11,27	232 (± 14) A	6,9
Nº de camadas do colênquima	5,2 (± 0,4) B	7,90	5,5 (± 0,5) B	9,96	6,5 (± 0,5) A	8,4
Comprimento do pecíolo (cm)	2,76 (± 0,57) B	20,8	2,83 (± 0,49) B	17,1	3,82 (± 0,44) A	11,4

Tabela 4: Dois principais componentes (PC1 e PC2) obtidos a partir da matriz de correlação para as características anatômicas medidas nas folhas de *Mikania glomerata*, nos diferentes tratamentos testados.

Table 4: Two principal components (PC1 and PC2) obtained from the matrix of correlation for the anatomic characteristics measured of the leaves of *Mikania glomerata* of the different treatments.

Características anatômicas	Principal componente	
	1	2
Massa seca foliar	-0,853	0,321
Área foliar	-0,951	0,165
Conteúdo de água foliar	-0,923	0,109
Comprimento do pecíolo	-0,880	0,129
Espessura total do limbo	0,474	0,839
Densidade estomática	0,764	0,018
Densidade de tricomas abaxial	0,878	0,186
Densidade de tricomas adaxial	0,489	0,200

### Legenda das Figuras

Figura 1. Análise de componente principal (PCA) para características morfológicas de *Mikania glomerata*, representando os tratamentos campo (1), meia sombra (2) e bosque (3) em relação a PC1 e PC2, agrupados utilizando método do “Minimum Convex Poligon”.

Figure 1. Principal component analysis (PCA) for morphological characteristics of *Mikania glomerata* representing open-field (1), half shade (2), and understory (3) treatments grouped according to PC1 and PC2 using the “Minimum Convex Polygon Method”.

Figuras 2 a 5. Folhas de *Mikania glomerata* em vista frontal. 2. Epiderme da face adaxial. 3. Epiderme da face abaxial. 4. Fotomicrografia dos tricomas em microscopia eletrônica de varredura. 5. Detalhe do tricoma em secção transversal, destacando tricoma glandular (tg) e parênquima lacunoso (pl). Barra=100 µm (figs 2); 50 µm (figs 3 e 11); 20 µm (figs 5 e 6).

Figures 2 to 5. Frontal view of the leaves of *Mikania glomerata*. 2. Epidermis of the adaxial surface. 3. Epidermis of the abaxial surface. 4. Photomicrograph of the trichomes in scanning electron microscopy. 5. Detail of the trichome in cross section, depicting the glandular trichome (tg) and the spongy parenchyma (pl). Bar=100 µm (fig 2); 50 µm (fig 3 and 11); 20 µm (figs 5 and 6).

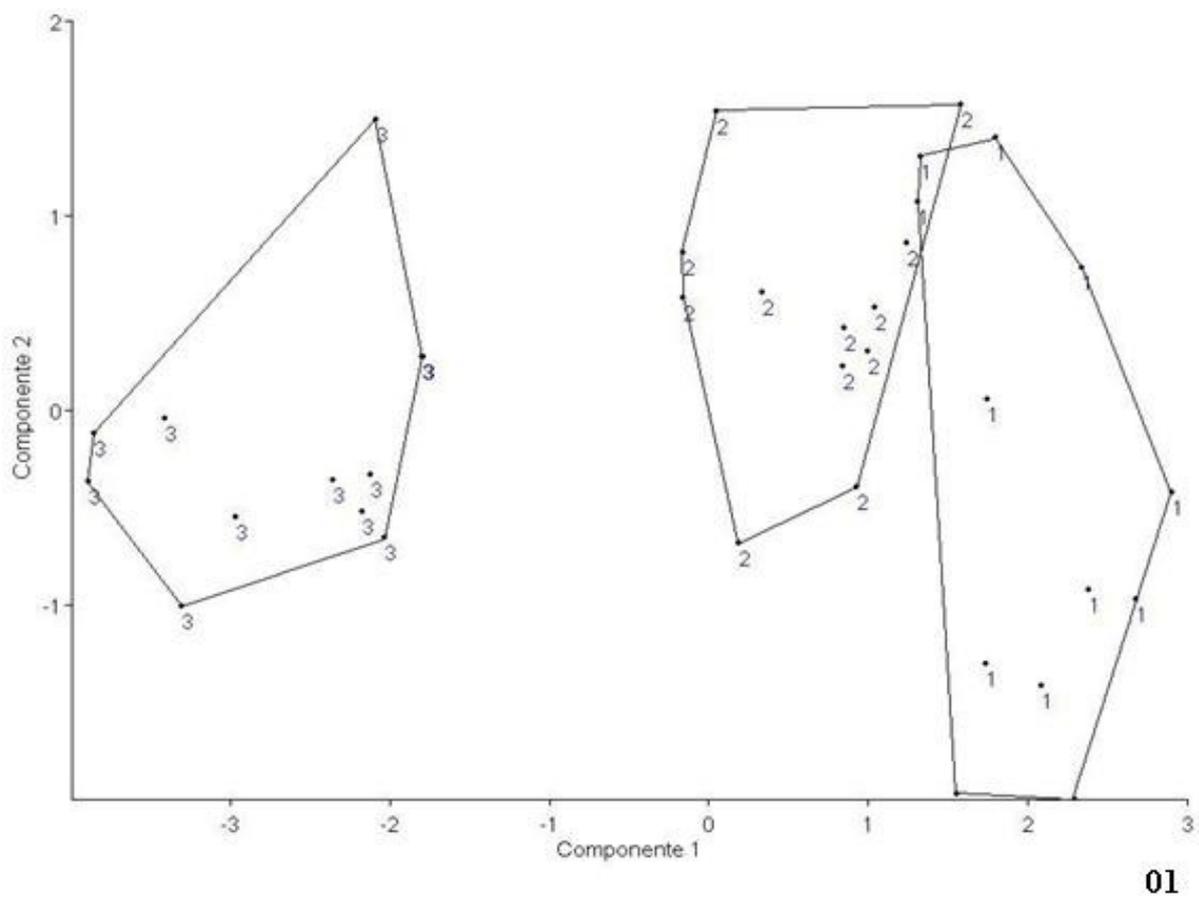
Figuras 6 e 7. Anatomia foliar de *Mikania glomerata* Spreng. Secção transversal do limbo evidenciando epiderme (ep), camada sub-epidérmica (cs), parênquima paliçádico (pp), parênquima lacunoso (pl), bainha parenquimática (bp), feixe vascular (fv) e ducto secretor (ds). 7. Nervura central da folha de *M. glomerata* em secção transversal, evidenciando camada subepidérmica (cs), colênquima angular (ca), ducto secretor (ds), feixe vascular (fv). Barra=100 µm

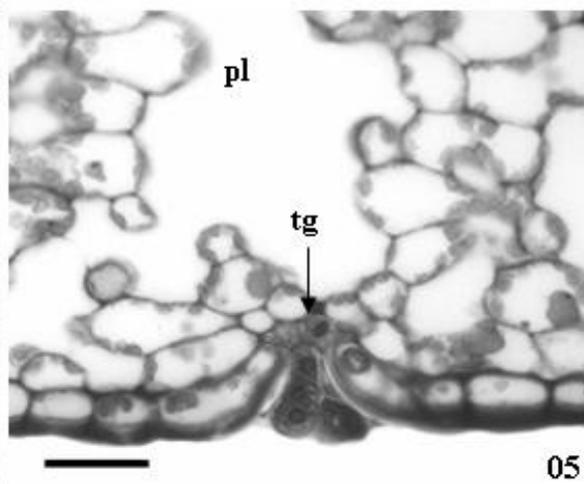
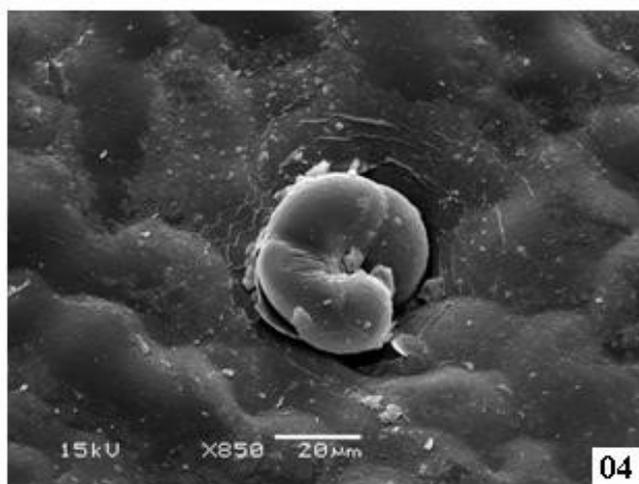
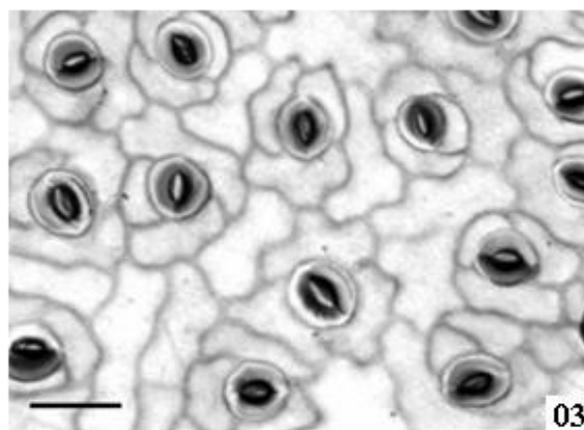
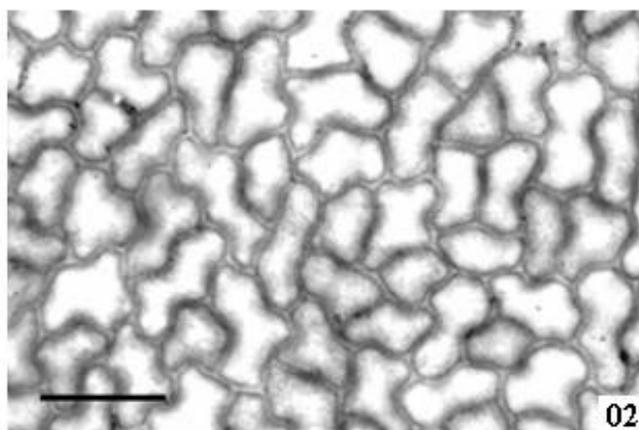
Figures 6 and 7. Leaf anatomy of *Mikania glomerata* Spreng. Cross section of the lamina, depicting epidermis (ep), sub-epidermic layer (cs), palisade parenchyma (pp), spongy parenchyma (pl), parenchymatic bundle sheet (bp), vascular bundle (fv) and secretory duct (ds). 7. Central vein of the leaf of *M. glomerata*, in cross section, depicting sub-epidermic

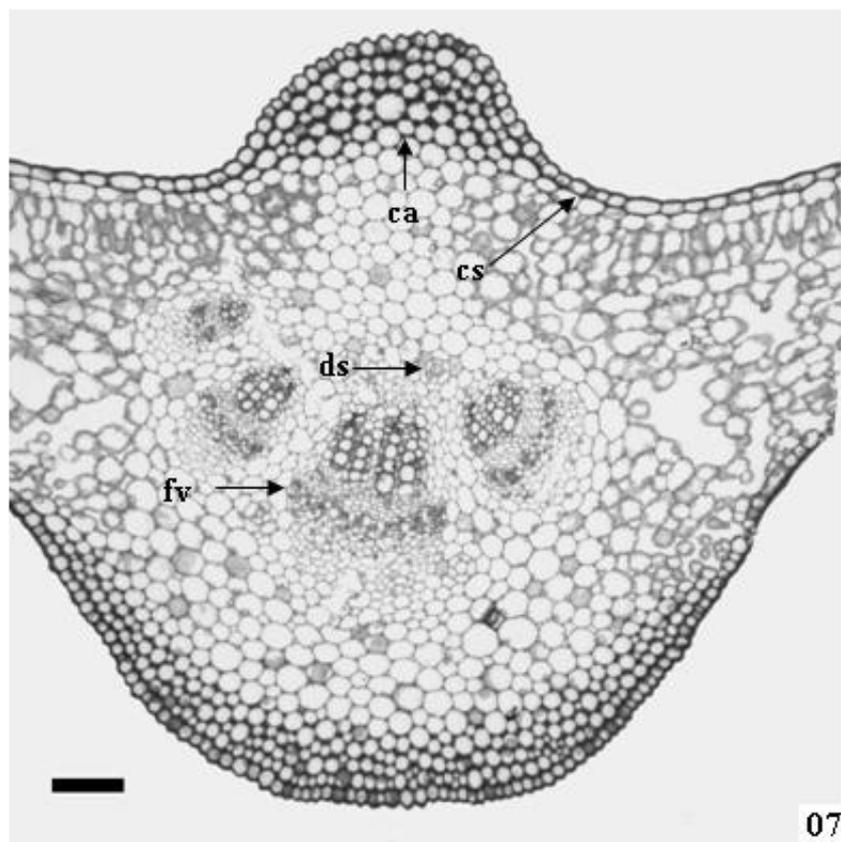
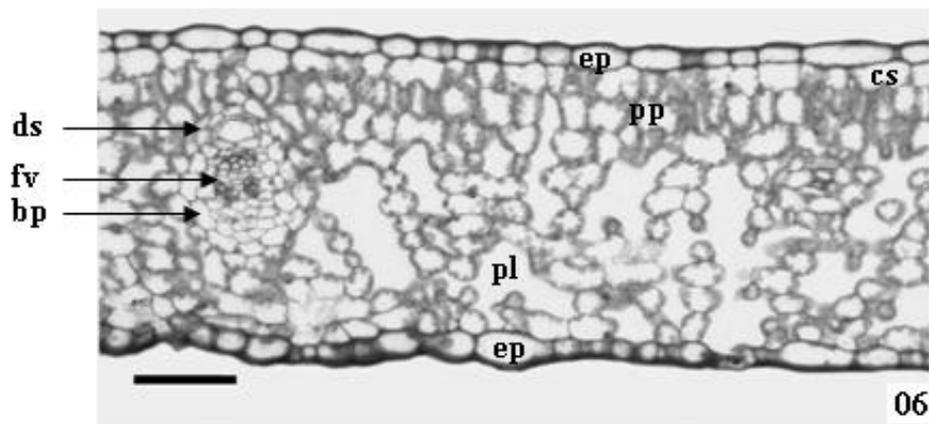
layer (cs), angular collenchyma angular> (ca), secretory duct (ds), vascular bundle (fv). Bar = 100  $\mu\text{m}$ .

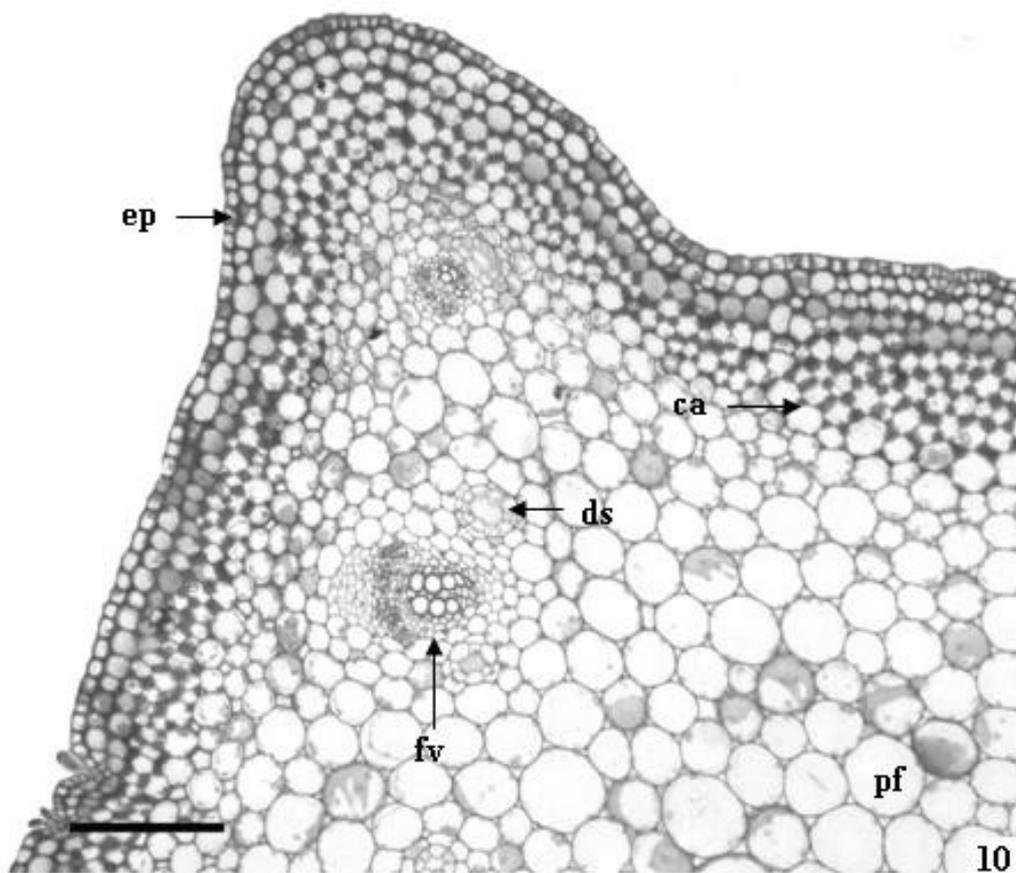
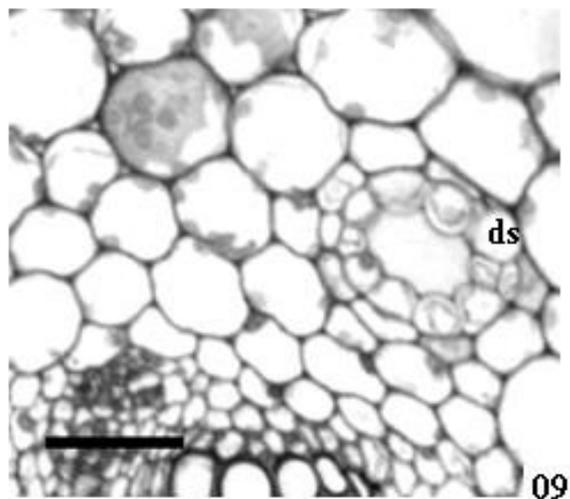
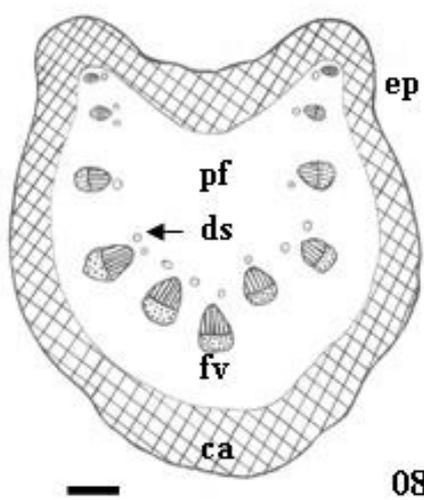
Figuras 8 a 10. Secções transversais do pecíolo de *M. glomerata*. 8. Esquema do pecíolo evidenciando epiderme (ep), colênquima angular (ca), feixes vasculares (fv), ductos secretores (ds) e parênquima fundamental (pf). 9. Detalhe do ducto secretor (ds). 10. Secção transversal do pecíolo evidenciando epiderme (ep), colênquima angular (ca), feixes vasculares (fv), ductos secretores (ds) e parênquima fundamental (pf). Barras= 200  $\mu\text{m}$  (figs 8 e 10), 50  $\mu\text{m}$  (fig 9).

Figures 8 to 10. Cross sections of the petiole of *M. Glomerata*. 8. Schematic drawing of the petiole depicting epidermis (ep), angular collenchyma (ca), vascular bundles (fv), secretory ducts (ds) and parenchyma (pf). 9. Detail of the secretory duct (ds). 10. Cross section of the petiole depicting epidermis (ep), angular collenchyma (ca), vascular bundles (fv), secretory duct (ds) and parenchyma (pf). Bars = 200  $\mu\text{m}$  (figs 8 and 10); 50  $\mu\text{m}$  (fig 9).









**VARIAÇÃO DA ESTRUTURA FOLIAR DE *Bauhinia forficata* Link. (LEGUMINOSAE)  
SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUMINOSIDADE.**

Ari Espindola Junior; Maria Regina Torres Boeger; Agenor Maccari Júnior; Carlos Bruno

Reissmann; Fernanda Lessa Rickli

1. Curso de Pós-Graduação em Botânica, SCB, UFPR Caixa Postal 19031, 81531.990, Curitiba, PR
2. Departamento de Botânica, SCB, UFPR Caixa Postal 19031, 81531.990, Curitiba, PR
3. Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, SCA, Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR
4. Acadêmica do curso de Agronomia, UEPG.

ABSTRACT – (Morpho-anatomical variations of leaves of *Bauhinia forficata* Link (Leguminosae) under different light conditions). Morpho-anatomical variations of leaves of *Bauhinia forficata* Link. were investigated in different light regimes resulting from vegetational canopy densities at Fazenda Capão Bonito, Castro Municipality, PR defined such as open-field (high light), sparse native vegetation (half shade) and understory (shade), respectively with 100%, 26,4% e 13,8% of light intensity. This study try do help the plant producers to choose the best light condition to plant this species, to furnish informations os produtores na escolha da melhor condição de luz para plantio desta espécie, gerando informações para avaliação de seu potencial na recomposição do subosque da área de estudo. After two years of the experiment, leaves of *B. forficata* were collected on open-field and shade treatment. The half-shade treatment was very danificado under intense herbivory. The mean values for fresh and dry mass did not vary among the treatments, however, the higher mean values for leaf area observed on understory treatment suggest a higher productivity of green mass on the shade conditions for the cultivation of this species.

Key-words: *Bauhinia forficata*, leaf morphology, light regime, medicinal plants.

RESUMO – (Variação da estrutura foliar de *Bauhinia forficata* link. (Leguminosae) sob diferentes condições de luminosidade). Modificações morfoanatômicas nas folhas de *Bauhinia forficata* Link. foram investigadas em diferentes regimes de luminosidade resultantes da cobertura vegetal ocorrente na Fazenda Capão Bonito, Município de Castro, PR: áreas de campo (sol pleno),

vegetação nativa pouco densa (meia sombra) e bosque (sombra), respectivamente com 100%, 26,4% e 13,8% de intensidade luminosa. Este estudo buscou subsidiar os produtores na escolha da melhor condição de luz para plantio desta espécie, gerando informações para avaliação de seu potencial na recomposição do subosque da área de estudo. Após dois anos de experimento, folhas de *B. forficata* foram coletadas apenas em condição de campo e bosque, devido à intensa herbivoria que danificou o tratamento meia sombra. Os maiores valores médios para massa fresca e seca foliar não variaram entre os tratamentos, entretanto os maiores valores médios de área foliar observado sugerem uma maior produtividade de massa verde nas condições mais sombreadas de cultivo desta espécie.

Palavras-chave: *Bauhinia forficata*, morfologia foliar, intensidade luminosa, plantas medicinais.

## Introdução

A cultura de *Ilex paraguariensis* St.Hil. (Aquifoliaceae), conhecida popularmente como erva mate, possui vínculos históricos com Estado do Paraná (Brasil), sendo que na Região Sul esta constitui uma das principais fontes de emprego e renda, especialmente para pequenos e médios agricultores (Dedecek & Rodigheri 1999). No entanto, o tempo de espera para cultivares plantados atingirem o porte para colheita é longo, o que torna oneroso para o produtor a manutenção da área de cultivo em curto prazo. Uma alternativa para este problema é o consórcio de culturas de alto valor agregado com os ervais.

Dentre as espécies bem difundidas na medicina popular e com destaque no cenário farmacológico atual destaca-se *Bauhinia forficata* Link. (Leguminosae), amplamente conhecida como pata-de-boi, pata-de-vaca, unha-de-vaca e morró (Pio 1984). É uma planta espinhenta, variando de 5 à 9 m de altura, com tronco tortuoso de 30 a 40 cm de diâmetro, folhas glabras ou levemente pubescentes na face dorsal, divididas até acima do meio, de 8 a 12 cm de comprimento (Lorenzi 1998). As folhas, caules e raízes das espécies de *Bauhinia* são amplamente utilizadas em forma de chás e outras preparações fitoterápicas para o tratamento de várias enfermidades, principalmente infecções, processos dolorosos e diabetes (Silva & Cechinel 2002). Popularmente é utilizada para tratar algumas afecções urinárias, reduzir excreção urinária e regular a glicemia sanguínea (Pio 1984), com flavonóides associados à atividade hipoglicêmica (Salatino *et al.* 1999).

Para espécies cujo valor comercial está na utilização das folhas, alterações na área foliar, peso seco foliar e espessura do limbo podem influenciar na quantidade final de massa verde, e conseqüentemente, na viabilidade econômica e no manejo da cultura, pois estão diretamente relacionadas à produção. Estudos morfológicos com plantas de interesse econômico como *Coffea arabica* (Voltan *et al.* 1992, Miranda *et al.* 1999), *Piper spidinervium* (Santiago *et al.* 2001), *Bouchea fluminensis* (Milaneze-Gutierrez *et al.* 2003) foram realizados em diferentes condições de luz, fornecendo informações importantes sobre variação da estrutura foliar, subsidiando aprimoramento das técnicas de cultivo convencionais com objetivo de maior produção. Entretanto,

espécies domesticadas e selecionadas artificialmente para o rápido crescimento em cultura podem apresentar padrões morfológicos diferentes dos observados em espécies nativas (Knapp & Fay 1997).

O alto valor agregado de comercialização de plantas medicinais constitui uma opção vantajosa de obtenção de renda alternativa para o pequeno produtor, a qual atendendo a demanda do mercado pode auxiliar na redução do extrativismo e propiciar opções para o controle de qualidade na produção de fármacos (Milaneze-Gutierrez *et al.* 2003). Informações sobre as variações de sua morfologia foliar em diferentes regimes de luz além de contribuir para o delineamento de métodos de cultivo podem auxiliar na avaliação da viabilidade de sua utilização em reflorestamentos de áreas improdutivas de fazendas, fomentando ações de recuperação e recomposição do bosque nativo ou iniciativas de manejo de cultivo. 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. Buscou-se aqui, portanto, investigar as possíveis alterações na estrutura foliar de *B. forficata* em duas diferentes condições de luz (campo e bosque) para subsidiar o produtor na escolha do melhor regime de luminosidade para o incremento da produção de plantas medicinais.

### **Material e métodos**

O experimento foi na Fazenda Capão Bonito (25°50'64"S e 49°43'69"W), Município de Castro, Estado do Paraná (Brasil). O local apresenta diferentes tipos de cobertura vegetal, ocorrendo áreas de campo, mata nativa, capoeira e reflorestamento por *Pinus* sp. A área de estudo localiza-se no Primeiro Planalto e apresenta temperatura média anual de 16,3°C, mês mais quente com 20,1°C, mês mais frio com 11,7°C, máxima média de 23,7°C. O mês chuvoso é Janeiro, com 200,1 mm e o mês menos chuvoso é Julho, com 80 mm, apresentando 12 meses úmidos, com precipitação anual de 1.469,1 mm. É climaticamente caracterizada como Cfb: clima quente-temperado, sempre úmido de acordo com a classificação de Koeppen (Maack 2002).

Mudas de *Bauhinia forficata* provenientes da empresa CHAMEL® foram plantadas em covas abertas com dimensões de 0,30 x 0,30 x 0,30 metros, seguindo espaçamento 1,5 metros entre as plantas. Parcelas e locais de plantio foram selecionadas e demarcadas com estacas de madeira, delimitando três tratamentos, sendo realizado no local apenas coroamento das mudas. Maiores detalhes do delineamento do experimento encontram-se em Rickli *et al.* (2003). A área de campo (sol pleno) predomina vegetação herbácea, com 100% de intensidade luminosa; a área de vegetação nativa pouco densa (tratamento meia-sombra) apresenta 26,4% de intensidade luminosa e a área de bosque (sombra) possui 13,8 % de intensidade luminosa.

No tratamento meia-sombra, a intensa herbivoria danificou várias mudas, limitando o número de amostras e inviabilizando a coleta, motivo pelo qual o estudo enfatizou os tratamentos campo e bosque.

A análise de solo foi realizada por meio de tradagem de amostras com trado tipo holandês em cada bloco e posterior análise de características físicas e químicas no Laboratório de Química e Fertilidade do solo do DSEA – UFPR.

Vinte e nove folhas totalmente expandidas de indivíduos de *B. forficata* em cada um dos tratamentos (campo e bosque), entre os 3º e 4º nós, no sentido ápice-base, foram coletadas para análise das características morfológicas no mês de dezembro, após dois anos de experimento. Destas, 17 folhas de *B. forficata* por tratamento foram umedecidas e acondicionadas em sacos plásticos para mensuração da massa fresca em balança analítica. Estas folhas foram posteriormente prensadas em papel jornal e desidratadas em estufa a 50°C, até atingirem peso constante para a mensuração de suas respectivas massas secas. O conteúdo de água da folha foi calculado pela diferença entre massa fresca e seca foliar. A área foliar foi estimada através da imagem digitalizada destas folhas em scanner de mesa acoplado a computador, com auxílio do *software* SigmaScan-Pro Versão 5.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 1995). A partir dos dados de área foliar e massa seca foi calculada a área específica foliar  $AEF = \text{área foliar (cm}^2\text{)} / \text{massa seca (g)}$ , proposta por Witkowski & Lamont (1991).

As densidades estomáticas e de tricomas foram calculadas em ambas as faces foliares utilizando-se a clarificação em hipoclorito 20% do terço médio da folha. Posteriormente, as amostras foram coradas com Sudam III e montadas entre lâmina e lamínula para contagem dos estômatos e tricomas em 12 campos de uma área de  $1\text{mm}^2$ , com auxílio de microscópio acoplado com câmara clara.

A densidade de cristais foi estimada com fragmentos foliares clarificados com hipoclorito de sódio 20% e posteriormente diafanizados em Hoyer 10% (Beek 1955), para contagem em 12 campos de uma área de  $1\text{mm}^2$ , com auxílio de microscópio acoplado com câmara clara.

Doze amostras de terço médio foliar por tratamento foram fixadas em FAA 70 (etanol 70%, formaldeído e ácido acético 18:1:1 v/v) (Johansen 1940) e posteriormente conservadas em álcool 70% para mensuração dos tecidos do limbo e descrição anatômica.

Secções transversais à mão livre foram realizadas para mensurações da espessura do limbo e tecidos foliares em microscópio provido de ocular micrometrada. Para a descrição e a análise anatômica da folha, secções paradérmicas foram obtidas à mão livre e secções transversais do terço médio foliar foram obtidas após a desidratação em série alcoólica-etílica crescente e inclusão do material em glicolmetacrilato (GMA), seguindo as técnicas convencionais (Feder & O'Brien 1968) e recomendações do fabricante (Leika<sup>®</sup>). As secções transversais foram coradas com Fuccina Básica e Azul de Astra (Alves de Brito & Alquini 1996) e vedadas em meio de montagem (Permout<sup>®</sup>). Demais técnicas foram testadas, como reações para amido, compostos fenólicos e lipídios, com Lugol, Cloreto Férrico e Sudam III, respectivamente e coloração metacromática com Azul de Toluidina 0,5%.

Para microscopia eletrônica de varredura (MEV), o material utilizado fixado em FAA 70 foi desidratado em série etanólica crescente, embebido em álcool absoluto e submetido ao ponto crítico com equipamento Baltec CPD 030 Critical Point Dryer, à 32°C. As amostras foram metalizadas em metalizador FL9496 Balzers SCD 030, observadas e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM – 6360 LV, no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

A concentração de clorofila foi obtida a partir de amostras de seis folhas por tratamento, embaladas no local de coleta em papel alumínio, acondicionadas em caixa de isopor com gelo e, em seguida, transportadas para o laboratório. Para a quantificação dos pigmentos foliares (clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total) foi efetuada a extração com acetona aquosa 80% fria, centrifugação do extrato em 1500 rpm e leitura de absorvância no espectrofotômetro Hitachi modelo U-2001 (Hitachi, Inc., São Francisco, Ca, USA). Para obtenção das concentrações de clorofila aplicou-se nos resultados, os coeficientes de extinção determinados por Porra *et al.* (1989).

Para todas as variáveis quantitativas foram calculadas as médias e os respectivos desvios padrão. A homogeneidade das variâncias foi testada pelo teste de Bartlett e as médias das características morfológicas comparadas pela análise da variância (ANOVA), com auxílio do *software* Statistica versão 6.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA 1998). Nos casos em que as variâncias não foram homogêneas foi efetuada transformação dos dados. As características morfológicas foram correlacionadas entre si em função dos tratamentos ( $p < 0,05$ ) por meio do *software* Statistica e o grau de correlação ( $r^2$ ) foi obtido de acordo com o proposto pelo STATISTICS PRIMER (Heffner Media Group Inc., 2002).

## Resultados

O solo do local de estudo classifica-se como um cambissolo áplico distrófico (EMBRAPA 1999), apresentando alta relação silte-argila, motivo pelo qual pode-se considerar este em processo de formação e liberação de nutrientes a partir da intemperização do silte. É considerado distrófico para critérios agronômicos de produção, que geralmente envolvem espécies exóticas, sendo, entretanto, bem qualificado para as espécies nativas da região. A análise de fertilidade (tabela 1) evidenciou pH muito baixo, assim como os níveis de Cálcio e Magnésio. Os valores obtidos para Potássio foram suficientes no tratamento campo e baixos para os tratamentos meia sombra e bosque quando comparados com os tabelados (CQFS SC/RS 2004). Contudo, as taxas de Fósforo observadas podem ser limitantes e as de Alumínio muito altas (Tomé Jr 1997), com a ressalva de

que para espécies nativas, com sistema abundante em matéria orgânica e água os efeitos destas concentrações podem não ser nocivos. A concentração de Nitrogênio foi estimada a partir da quantificação de matéria orgânica no solo, estando satisfatória.

Os valores médios de massa fresca e seca foliar, assim como o conteúdo de água, não diferiram estatisticamente entre os dois tratamentos ( $p > 0,05$ ), enquanto que os valores médios de área foliar e área específica foliar (AEF) foram significativamente maiores em bosque (47,3% e 52,1% respectivamente) quando comparados com campo (tabela 2). A área foliar apresentou uma correlação positiva e moderada com peso fresco, seco e conteúdo de água ( $r^2 = 0,46; 0,32$  e  $0,52; p < 0,05$ , respectivamente).

A densidade estomática apresentou valores médios 67,7% maiores no tratamento de campo quando comparado com o tratamento bosque, ao contrário da densidade de drusas e cristais prismáticos, cujos maiores valores médios ocorreram no tratamento bosque (50,0% e 20,3% respectivamente) quando comparado com o tratamento campo. A densidade de tricomas não diferiu significativamente entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ).

A espessura média da face abaxial da epiderme das folhas do tratamento campo difere do tratamento bosque ( $p < 0,05$ ) sendo 10,1% maior, ao contrário da face adaxial que não diferiu entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) (tabela 2). Os valores médios de espessura total do limbo e mesofilo foram 29,1% e 31,4% respectivamente maiores no tratamento campo que no tratamento bosque, incluindo os valores médios de espessura das 1º, 2º e 3º camadas de parênquima paliçádico (27,1%; 36,4%; 45,6% maiores, respectivamente), uma vez que o mesofilo é homogêneo e não há parênquima lacunoso.

Os valores médios de clorofila *a*, *b*, total e razão entre clorofila *a/b* são apresentados na tabela 2. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas na concentração de clorofila entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), os maiores valores médios de clorofila *a* e *b* e total ocorreram no tratamento bosque.

*Bauhinia forficata* Link. possui folhas glabras ou levemente pubescentes, com o limbo dividido profundamente. Anatomicamente, em vista frontal, a epiderme da face adaxial apresenta células de formato irregular, com paredes anticlinais sinuosas, sem tricomas (figura 1) e estômatos com distribuição restrita as proximidades dos feixes vasculares, tanto de maior e menor porte. A face abaxial da epiderme possui células bastante ornamentadas, pequenas, com parede periclinal externa convexa, estômatos anisocíticos. Nesta face, observam-se tricomas tectores longos, filamentosos, multicelulares e com ornamentação de parede (figuras 2 a 4) e tricomas glandulares bastante escassos. Na região da nervura central, a face abaxial da epiderme apresenta células alongadas e tricomas tectores maiores e crassos (figura 5).

Quando diafanizadas, as folhas evidenciam em vista frontal grande número de cristais de oxalato de cálcio, principalmente na forma de drusas e cristais prismáticos. O padrão de distribuição destes na folha é diferenciado, com predomínio de cristais prismáticos associados aos feixes vasculares, variando em número de acordo com o diâmetro do feixe. Já as drusas foram encontradas preferencialmente no mesofilo (figura 6).

Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada, composta por células retangulares levemente maiores na face adaxial e com parede periclinal externa convexa na face abaxial. O mesofilo é homogêneo, composto por três camadas de parênquima paliçádico densamente disposto, mais alongados na primeira e segunda camada interna a epiderme adaxial (figura 7). Os feixes vasculares são colaterais, envolvidos por bainha parenquimática, apresentando fibras do floema e extensão de bainha parenquimática em direção a face adaxial (figura 7).

A região da nervura central apresenta, em secção transversal, epiderme uniestratificada. Internamente, observa-se cerca de três a quatro camadas de colênquima com parede pouco espessada. O feixe vascular é único e em arco, envolvido por uma bainha de fibras (figura 8). A região de transição entre a nervura central e o limbo foliar é diferenciada por um estrangulamento das camadas celulares, onde a camada de células paliçádicas é substituída por parênquima

fundamental com células clorofiladas (figura 8). A estrutura e organização dos tecidos da nervura central não variaram entre os tratamentos.

O pecíolo, apresenta epiderme uniestratificada com tricomas tectores. Seu formato em secção transversal é ovalado, possuindo duas cristas laterais na porção adaxial (figura 9), onde se localiza em cada porção um feixe vascular envolvido por uma calota de fibras e parênquima fundamental (figuras 10). Na região central do pecíolo evidencia-se um feixe vascular disposto em forma de arco, cercado por uma espessa camada de fibras e parênquima fundamental (figura 11). Não foram observadas variações na estrutura anatômica do pecíolo entre os tratamentos.

### Discussão

Entre as características observadas, apenas área foliar, AEF, densidades de estômatos e cristais, além das espessuras total, do mesofilo, camadas do parênquima paliçádico e face abaxial da epiderme apresentaram diferenças significativas.

Ao contrário do esperado, a massa seca foliar não apresentou valores médios significativamente maiores no tratamento campo, como ocorre em várias espécies em cultivo a pleno sol, devido a maior quantidade de células e tecidos com paredes secundárias (Castro Díez *et al.* 2000, Turner 1994). Os valores médios de massa seca não apresentaram diferenças significativas entre os dois tratamentos, provavelmente devido a maior espessura foliar média nas folhas do tratamento campo e a maior área foliar média nas folhas do tratamento bosque. Estas duas características morfológicas da folha contribuíram para o incremento da massa seca, em cada tratamento, porém em proporções diferentes. Isto fica evidente, nos valores médios de AEF, que são maiores no tratamento bosque.

A AEF, neste estudo, parece ser determinada principalmente pelo incremento da área foliar, que foi grande (>50%) entre os tratamentos. O menor incremento de espessura (cerca de 29%) não contribuiu na mesma proporção para a variação área específica foliar (Steiger *et al.* 2003).

Os maiores valores de área foliar observados neste estudo estão de acordo com outras investigações onde a área foliar é proporcional a condição de maior sombreamento (Marques *et al.* 1999, Meziane & Shipley 1999, Klich *et al.* 2000, Milaneze-Gutierrez *et al.* 2003). Geralmente, maiores folhas representam uma maior superfície para captação de luz e produção fotossintética para planta sem risco de aquecimento ou transpiração excessiva em ambientes com pouca luz (Gates *et al.* 1968, Smith 1978, Bragg & Westoby 2002).

Os maiores valores de densidade estomática, tanto na face abaxial quanto adaxial, que ocorreram no tratamento campo estão associados a maior disponibilidade de luz (Ashton & Berlin 1992, Poole 1996, Roças *et al.* 1997, Castro *et al.* 1998, Klich *et al.* 2000, Santiago *et al.* 2001), maior capacidade fotossintética devido a maior condutância estomática (Woodward *et al.* 2002, Morais *et al.* 2004) e maior controle sobre a transpiração, possibilitando reduzir a perda de água com abertura e fechamento dos estômatos em condições mais favoráveis (Givnish 1988, Lee *et al.* 2000, Allen & Pearcy 2000).

Apesar da densidade de tricomas não diferir entre os tratamentos, as múltiplas funções atribuídas aos tricomas na superfície foliar dependem do ambiente em que ocorrem (Press 1999). Estes podem estar relacionados à proteção da folha por radiação excessiva em ambientes mais luminosos ou mesmo à retenção de nutrientes e reflexão da radiação solar para o interior das células do mesófilo, incrementando a captura de luz para a fotossíntese, assim como interferir na manutenção da temperatura foliar e conteúdo de água ou, ainda, na resistência a insetos nocivos (Press 1999, Silva *et al.* 2005), mesmo sem variar em densidade entre os tratamentos.

A posição dos tricomas tectores com seu eixo maior paralelo a superfície epidérmica da folha é descrita em *B. forficata* por Donato (1995) como decorrência da curvatura da célula basal.

A densidade de cristais, tanto de drusas como de cristais prismáticos, foi maior no tratamento bosque, apesar da análise de solo indicar os menores valores médios de concentração de Cálcio neste tratamento. A formação de cristais de oxalato de cálcio é, em geral, associada ao mecanismo de regulação dos níveis de Cálcio nos tecidos e órgãos (Hudgins *et al.* 2003), estoque de

Cálcio quando seus níveis aumentam no solo (Franceschi & Horner 1980) ou, ainda, defesa contra herbivoria (Ruiz *et al.* 2002). Franceschi (2001) sugere que drusas ocorrendo nas células paliçádicas podem ser uma estratégia de aproveitamento da luz pelo mesofilo, pois os cristais auxiliam na difusão dos raios incidentes em ambientes mais sombreados.

Devido à capacidade de propagar a luz para regiões mais internas do mesofilo, várias camadas de parênquima paliçádico geralmente ocorrem associado a folhas mais espessas (Terashima 1995, Vogelmann *et al.* 1996, Smith *et al.* 1997) e em condições de maior luminosidade. Os maiores valores médios do mesofilo e, conseqüentemente, da espessura do parênquima paliçádico, no tratamento campo estão relacionados com a diferença de espessura das diferentes camadas de tecido, uma vez que o número de camadas (três) permanece o mesmo. A variação na espessura das camadas do parênquima paliçádico parece ser uma resposta a condição de luz, para aumentar a capacidade fotossintética (Smith *et al.* 1998). As auxinas em particular têm um papel promotor na distensão celular (Taiz & Zeiger 2004) e, devido a uma característica molecular, estas têm também a capacidade de migrar para faces ou regiões menos iluminadas da folha, concentrando-se em regiões mais sombreadas e distendendo as células mais facilmente (Medri & Perez 1979, Morais *et al.* 2004). Como conseqüência, as folhas de ambientes mais iluminados concentram suas auxinas no mesofilo, em contraste com as folhas de sombra, cujas auxinas estão distribuídas ao longo de todo o limbo, incluindo epidermes (Morais *et al.* 2004). Esta diferença na distribuição das auxinas é, em grande parte, responsável pelas diferenças estruturais observadas na distensão das células epidérmicas em folhas de sombra (Morais *et al.* 2004).

Apesar das camadas mais espessas do parênquima paliçádico incrementarem a espessura total do limbo foliar, a ocorrência de um maior número de estômatos por unidade de área, em ambas as faces da folha, favorece as trocas gasosas, principalmente em mesofilos com poucos espaços intercelulares (Givnish 1988, Thompson *et al.* 1992), como é o caso da espécie em estudo. Alterações anatômicas, particularmente na densidade estomática e arranjo dos espaços intercelulares do mesofilo, afetam a resistência para trocas gasosas e podem limitar a assimilação

fotossintética, assim como a quantidade e distribuição de pigmentos na folha, determinando a eficiência na captura de luz e fotossíntese (Lee *et al.* 2000).

O mesofilo homogêneo, caracterizado apenas por células do parênquima paliçádico, também tem importância na eficiência fotossintética (Smith *et al.* 1998). O arranjo colunar das células do parênquima paliçádico representam uma maior superfície exposta por unidade de volume, facilitando a penetração da luz canalizada, o que favorece a absorção dos raios luminosos (Smith *et al.* 1997, Evans 1999). Por outro lado, os cloroplastos localizados próximos à superfície foliar estão sujeitos a grande irradiância e absorvem mais luz por unidade de clorofila que cloroplastos no centro da folha. (Evans 1999). Por isso, pelo menos em parte, folhas de sol são espessas, arranjando todos os cloroplastos ao longo da superfície celular das células do mesofilo (Oguchi *et al.* 2003).

Apesar dos valores médios de clorofila *a*, *b* e total não diferirem entre os tratamentos, o que não era esperado, observou-se maiores valores médios no tratamento sombra. Em função das diferentes condições de luz, as concentrações de clorofila por unidade de área geralmente variam (Taiz & Zieger 2004).

Existe uma forte relação entre espessura da folha e taxa de saturação da fotossíntese por unidade de área (Oguchi *et al.* 2003). Se uma folha aumenta seu número de cloroplastos sem aumentar a espessura dos tecidos, alguns cloroplastos podem não ficar posicionados aderidos a parede celular e conseqüentemente não interceptar o máximo de raios luminosos possível ou receber suprimentos de CO<sub>2</sub> suficientes para fixação (Oguchi *et al.* 2003), o que resulta em pouca contribuição para fotossíntese.

Apesar das folhas de *B. forficata* não apresentarem diferenças significativas entre os tratamentos de luz em relação à concentração de clorofila, é possível considerar a hipótese de que as diferenças estruturais observadas no mesofilo e representadas pelos maiores valores médios de espessura do parênquima paliçádico em campo possam representar a possibilidade de reorganização e posicionamento dos cloroplastos no interior das células, de forma mais propícia a interceptação da luz, uma vez que células com maior comprimento podem apresentar maior superfície para

posicionamento dos cloroplastos. Isso significa que os valores de clorofila encontrados não descartam diferenças nas taxas fotossintéticas entre folhas de campo e bosque, pois um aumento da capacidade fotossintética apenas pela melhor disposição dos cloroplastos, sem aumento em quantidade ou concentração de pigmentos é possível.

A família Leguminosae apresenta como característica peculiar de suas folhas, a presença de tricomas tectores e/ou glandulares uni ou multisseriados, epiderme freqüentemente papilosa e arranjo das células subsidiárias ao redor dos estômatos bastante variável (Metckalf & Chalk 1965). Os cristais variam em distribuição quando presentes, sendo predominantemente solitários, mas podendo acompanhar os feixes vasculares, como em *Mimosa* e *Piptadenia*, ou aumentar de freqüência na base dos tricomas. Em relação aos pecíolos, geralmente um anel esclerenquimático envolve o feixe vascular (Metckalf & Chalk 1965). Em *Bauhinia forficata* ocorrem drusas no mesofilo e cristais prismáticos associados ao feixe vascular, assim como tricomas tectores na face abaxial.

Para a família, são descritos os tricomas tectores de diferentes tipos e comprimentos, ocorrendo o tipo bicelular para o gênero *Bauhinia* e curvados em *Cassia occidentalis* Linn (Metckalf & Chalk 1965). Ornamentações de parede morfológicamente classificadas como ceras em formato de plaquetas são descritas em ambas as faces epidérmicas das folhas de *B. Radiata*, não variando em função da luminosidade (Vieira e Machado, 1992). Em *B. forficata* as ornamentações de parede são rugosas, formando pequenas cristas na face abaxial, estando presentes nas células epidérmicas e tricomas tectores. Cicatrizes de tricomas caducos podem ocorrer nesta face. Tricomas glandulares são bastante desenvolvidos, com formato naviculado (Donato 1995) e raros. Na região da nervura central os tricomas tectores na são maiores, crassos, simples e multicelulares. Em *B. Radiata* tricomas tectores são relatados em ambas as faces, porém situados predominantemente sobre as nervuras (Vieira & Machado 1992, Vieira 1995).

È possível associar ao processo de fechamento da folha, observado *in vivo* em *B. forficata*, à exposição da face pubescente em condições adversas. Promovido pela aproximação dos lobos que unem as faces

adaxiais, a exposição da face abaxial foliar representa uma opção de controle de posicionamento e dobramento da folha por parte da planta, dispondo das vantagens que a densidade de tricomas pode apresentar para manutenção da temperatura foliar, por exemplo (Fahmy 1997, Press 1999, Roy *et al.* 1999).

Os feixes vasculares em secção transversal apresentam-se envoltos por uma bainha parenquimática, com extensão de bainha em direção a face adaxial. Para alguns autores, a bainha parenquimática da folha pode ser considerada uma endoderme, uma vez que existe uma continuidade dos tecidos entre os órgãos da planta (Menezes *et al.* 2003). O significado fisiológico da endoderme do feixe pode ser relacionado à eficiência na utilização dos aportes hídricos no interior do mesofilo (Fahn 1990).

O pecíolo em secção transversal é ovalado, apresentando duas cristas laterais na porção dorsal, cada qual com um feixe vascular envolvido por uma calota de fibras. Na região central do pecíolo evidencia-se o tecido vascular disposto em um único arco envolvido por uma espessa camada de fibras. O esclerênquima, principal tecido de sustentação presente no pecíolo, é caracterizado por células de parede secundária espessa, lignificadas ou não, o que lhe confere capacidade de sustentação e proteção (Fahn 1990).

Concluindo, os maiores valores médios de área foliar e área específica foliar apresentados anteriormente no tratamento bosque sugerem uma maior produtividade de massa seca nas condições mais sombreadas de cultivo desta espécie, uma vez que os valores médios de massa fresca e seca foliar não diferiram entre os tratamentos. As densidades estomática e de tricomas, espessura do limbo e tecidos do mesofilo foram maiores no tratamento campo, ao passo que alterações qualitativas não foram detectadas. Com bases nestes dados, a recomendação para o produtor seria de maior aproveitamento das áreas de bosque ou sombreamento.

Entretanto, variações das características anteriormente citadas ou na densidade de cristais, como observado entre os tratamentos, podem não ter reflexo apenas na folha, mas na planta como um todo. Assim, são necessários estudos complementares para investigar as variações no porte da

planta, número de folhas produzidas, velocidade de crescimento ou produção de princípios ativos em função dos tratamentos testados, pois o conjunto de informações permitirá uma contribuição maior para o delineamento do cultivo apropriado.

### **Agradecimentos**

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Botânica pelo logístico, à CAPES pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor, a Fundação Araucária pelo financiamento do projeto e ao Prof. Dr. Valmiqui Costa Lima, pela identificação do solo e informações pedológicas sobre a região de realização do experimento.

### **Referências bibliográficas:**

**Allen, M. T., & R. W. Pearcy.** 2000. Stomatal behavior and photosynthetic performance under dynamic light regimes in a seasonally dry tropical rain forest. *Oecologia* 122:470-478.

**Alves De Brito, C.J.F. & Alquini, Y.** 1996. A new method for staining botanical material embedded in glycol – methacrylate (GMA). *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 39: 949 – 951.

**Asthan, P.M.S. & Berlyn, G.P.** 1992. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. *New Phytologist* 121: 587-596.

**Beek, R.M.** 1955. Improvements in the squash technic for plant chromosomes. *Aliso* 3: 131-133.

**Bragg, J.G. & Westoby, M.** 2002. Leaf size and foraging for light in a sclerophyll woodland. *Functional ecology* 16: 633-639.

**Castro-Díez, P., Puyravaud J.P. & Cornelissen, J.H.C.** 2000. Leaf structure and anatomy as related to leaf mass per area variation in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia* 124: 476-486.

**Castro, E.M., Gavilanes, M.L., Alvarenga, A.A., Castro, D.M. & Gavilanes, T.O.T.** 1998. Aspectos da anatomia foliar de mudas de *Guarea guidones* (L.) Slumer, sob diferentes níveis de sombreamento. *Daphne* 8: 31-35.

**Dedecek, R.A. & Rodigheri, H.R.** 1999. Sistemas de preparo do solo em cultivos anuais intercalados em erva-mate. *Boletim de Pesquisa EMBRAPA Floresta*, 38: 77-88.

- Donato, A.M.** 1995. Anatomia foliar e abordagem fitoquímica de *Bauhinia forficata* Link (Leg-Caes.). *Bradea* 6: 357-371.
- Embrapa.** 1999. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Rio de Janeiro.
- Evans, J.R.** 1999. Leaf anatomy enables more equal acces to light and CO<sub>2</sub> betwen chloroplasts. *New Phytologist* 143: 93-104.
- Fahmy, G.M.** 1997. Leaf anatomy and its relation to the ecophysiology of some non-succulent desert plants from Egypt. *Arid Environments* 36: 499-525.
- FAHN, A. & CUTTER, D. F.** 1992. Xerophytes. Berlin: Gebrüder Borntraeger-Stuttgart.
- Feder, N. & O'brien, T.P.** 1968. Plant microtechnique: some principples and new methods. *American Journal of Botany* 55: 123-142.
- Franceschi, V. R. & Horner Jr., H. T.** 1980. Calcium oxalate crystals in plants. *The Botanical Review* 46: 361-427.
- Franceschi, V.** 2001. Calcium oxalate in plants. *Trends in Plant Science* 6: 331.
- Gates, D.M., Alderfer, R. & Taylor, E.** 1968. Leaf temperatures of desert plants. *Science* 159: 994-995.
- Givnish, T.J.** 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Aust. J. Plant Physiol.* 15: 63-92.
- Hudgins JW, Krekling T, Franceschi VR.** 2003. Distribution of calcium oxalate crystals in the secondary phloem of conifers: a constitutive defense mechanism? *New Phytologist* 159: 677–690
- Johansen, D.A.** 1940. *Plant Microtechnique*. Mc Graw Hill Book, New York.

**Klich, M.G.** 2000. Leaf Variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. *Environmental and Experimental Botany* 44: 171-183.

**Knapp, A.K. & Fay, P.A.** 1997. Plant strategies for coping with variable light regimes. In: *Mechanisms of environmental stress resistance in plants*. Edited by Amarjit S. Basra & Ranjit K. Basra. Harwood academic publishers.

**Lee, D.W., Oberbauer, S.F., Johnson, P., Krishnapilay, B., Mansor, M., Mahamad, H. & Yap, S.K.** 2000. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *American Journal of Botany* 87:447-455.

**Lorenzi, H.** 1998. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Árvores Brasileiras. 2ªed. Editora Plantarum. v II, p. 143.

**Maack, R.** 2002. Geografia física do Estado do Paraná. Imprensa oficial do Paraná, Curitiba.

**Marques, A.R., Garcia, Q.S. & Fernandes, G.W.** 1999. Effects of sun and shade on leaf structure and sclerophylly of *Sebastiania myrtilloides* (Euphorbiaceae) from Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. *Boletim Botânico da Universidade São Paulo* 18: 21-27.

**Medri, M.E. & Perez, E.L.** 1979. Ecofisiologia de plantas da Amazônia: anatomia foliar e ecofisiologia de *Bertholletia excelsa* Humb. and Bonpl. (castanha-do-pará). *Acta Amazônica* 9:15-23.

**Menezes, N. L., Silva, D.C., Pinna, G.F.A.M.** 2003. Folha. In: Beatriz Apezatto-da-Glória; Sandra Maria Carmello-Guerreiro. (Org.). *Anatomia Vegetal*. 1 ed. Viçosa, , v. 1, p. 301-325.

**Metcalf C.R & Chalk, L. .** 1965. *Anatomy of Dicotyledones: Leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. London, 2: 470-501.

**Meziane, D. & Shipley, B.** 1999. Interactin determinants of specific leaf area in 22 herbaceous species: effects of irradiance and nutrient availability. *Plant, cell and environment* 22: 447-459.

**Milaneze-Gutierrez, M.A.,; Mello, J.C.P. & Delaporte, R.H.** 2003. Efeito da intensidade luminosa sobre a morfo-anatomia foliar de *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae) e sua

importância no controle da qualidade da droga vegetal. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 13: 23-33.

**Miranda, E.M., Pereira, R.C.A., Bergo, C.L.** 1999. Comportamento de seis linhagens de café (*Coffea arabica* L.) em condições de sombreamento e pleno sol no Estado do Acre, Brasil. *Ciência e Agrotecnologia* 23: 62-69.

**Morais, H., Medri, M.E., Marur, C.J., Caramori, P.H., Ribeiro, A.M.A. & Gomes, J.C.** 2004. Modifications on leaf anatomy of *Coffea arabica* caused by shade of Pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47: 863-871.

**Oguchi, R., Hikosaka, K. & Hirose, T.** 2003. Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy? *Plant, Cell and Environment* 26, 505–512.

**Pio, M.C.** 1984. *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil*. Ed Imprensa Nacional, Rj, v. III, p. 518.

**Poole, I., Weyers, J.D.B., Lawson, T. & Raven, J.A.** 1996. Variation in stomatal density and index: implications for paleoclimatic reconstructions. *Plant cell and environment* 19: 705-712.

**Porra, R.J., Thompson, W.A. & Kriedmann, P.E.** 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 975: 384-394.

**Press, M.C.** 1999. The functional significance of leaf structure: a search for generalizations. *New Phytologists* 143: 213-219.

**Rickli, F.L, Maccari Jr, A., Mariano, J., Fernandes, J.S.C. & Mazuchowski, J.Z.** 2003. Análise do desenvolvimento de plantas de erva-mate e de espécies nativas medicinais em três diferentes condições de luminosidade. *Anais. 3º Congresso Sul-Americano da Erva-Mate*.

**Roças, G., Barros, C.F. & Scarano, F.R.** 1997. Leaf anatomy plasticity of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rain forest. *Trees* 11: 469-473.

**Roy, B.A., Stanton, M.L., & Eppley, S.M.** 1999. Effects of environmental stress on leaf hair density and consequences for selection. *J. Evol. Biol.* 12: 1089-1103.

**Ruiz, N., Ward, D. & Saltz, D.** 2002. Calcium oxalate crystals in leaves of *Pancreatium sickenbergeri*: constitutive or induced defence? *Functional Ecology* 16: 99–105.

**Salatino, A., Blatt, C. T. T., Santos, D.Y.A.C. & Vaz, A.M.S.F.** 1999. Foliar flavonoids of nine species of *Bauhinia*. *Revista Brasileira de Botânica* 22.

**Santiago, E.J.A., Pinto, J.E.B.P., Castro, E.M., Lameira, O.A., Conceição, H.E.O. & Gavilanes, M.L.** 2001. Aspectos da anatomia foliar da Pimenta Longa (*Piper spidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. *Ciências Agrotécnicas* 25: 1035-1042.

**Silva, K.L. & Cechinel Filho, V.** 2002. Plants of the genus *Bauhinia*: chemical composition and pharmacological potential. *Química Nova* 25: 449-454.

**Silva, L.M., Alquini, Y & Cavallet, V.J.** 2005. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. *Acta Botânica Brasílica* 19: 183-194.

**Smith, W.K., Bell, D.T. & Shepherd, K.A.** 1998. Associations between leaf structure, orientation, and sunligth exposure in five western Australian communities. *American Journal of Botany* 85: 56-63.

**Smith, W.K., Vogelmann, T.C., Delucia, E.H., Bell, D.T. & Shepherd, K.A.** 1997. Leaf form and photosynthesis: Do leaf structure and orientation interact to regulate internal light and carbon dioxide? *Bioscience*, Washington, v. 47 (11), p. 785-793.

**Smith, W. K. & Nobel, P. S.** 1978. Influence of irradiation, soil water potential, and leaf temperature on leaf morphology of a desert broadleaf, *Encelia farinosa* Gray (Compositae). *American Journal of Botany* 65: 429–432.

**Steiger, T., Roy, B. A. & Stanton, M.L.** 2003. Evolution in stressful environments II: adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapsis arvensis*. *J. Evol. Biol.* 16: 313-323.

**Taiz, L. & Zeiger, E.** 2004. *Fisiologia Vegetal*. 3º. ed. Porto Alegre: Artmed.

**Terashima, I. & Hikosaka, K. 1995.** Comparative ecophysiology of leaf and canopy photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 18: 1111-1128.

**Tomé Junior, J.B. 1997.** Manual de interpretação de análise de solo. Livraria e editora agropecuária. 247p.

**Thompson, W. A.; Kriedemann, P. E.; Craig, I. E.** Photosynthetic Response to light and nutrients in sun-tolerant and shade-tolerant rainforest trees. I. growth, leaf anatomy and nutrient content. *Australian Journal of Plant Physiology*, Collingwood, v. 19, p. 1–18. 1992.

**Turner, I.M. 1994.** Sclerophylly: primarily protective? *Ecology*, New York, v. 8, p. 669-675.

**Vieira, R.C & Machado, R.D. 1992.** Superfície foliar de *Bauhinia radiata* Vell. em dois ambientes. *Hoehnea* 19: 101-116.

**Vieira, R.C. 1995.** Anatomia da folha de *Bauhinia radiata* Vell. em diferentes ambientes. *Aquivos em Biologia e Tecnologia* 38: 63-107.

**Vogelmann, T.C., Nishio, J.N. & Smith, W.K. 1996.** Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. *Trends in Plant Science* 1: 65-70.

**Voltan, R. B. Q., Fahl, J. I. & Carelli, M. L. C. 1992.** Variações na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 4: 99-105.

**Witkowski, E.T.F. & Lamont, B.B. 1991.** Leaf Specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88: 486-493.

**Woodward, F.I., Lake, J.A. & Quick, W.P. 2002.** Stomatal development and CO<sub>2</sub>: ecological consequences. *New Phytologist* 153: 477-484.

Tabela 1: Tipo de vegetação e valores médios das características físico-químicas do solo, para cada tratamento (n = 3).

	<b>Campo</b>	<b>Bosque</b>
Tipo de vegetação predominante	Vegetação rasteira e herbácea	Arbóreas nativas densamente dispostas
pH (CaCl <sub>2</sub> )	3,66	3,50
Ca <sup>+3</sup> (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	0,53	0,34
Mg <sup>+2</sup> (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	0,39	0,19
K <sup>+</sup> (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	0,24	0,10
P (mg.dm <sup>-3</sup> )	3,23	2,53
M.O. (g.dm <sup>-3</sup> )	60	62
m (sat Al <sup>+3</sup> ) %	78,7	87,00
T (cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> )	15,28	16,20
Fração de Argila	475	541

Tabela 2: Valores médios, respectivos desvios padrão (entre parênteses) e coeficientes de variação (CV%) das características morfológicas para folhas de *Bauhinia forficata* nos diferentes tratamentos. Massa seca e fresca, conteúdo de água, área foliar e área específica foliar, n=17; densidades de estômatos, tricomas e cristais, espessuras foliares, n=12; concentração de clorofila, n=6. Letras diferentes para mesma variável representam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos (Tukey, p<0,05).

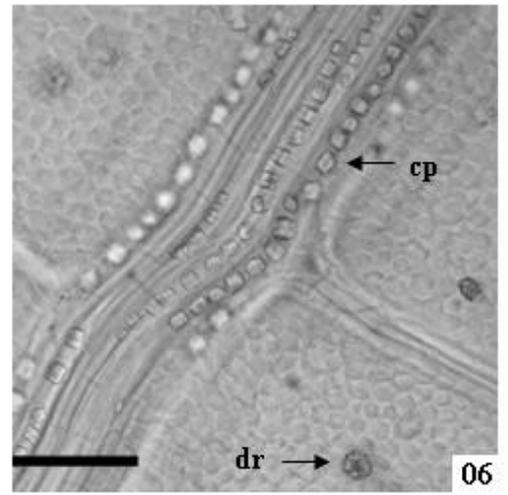
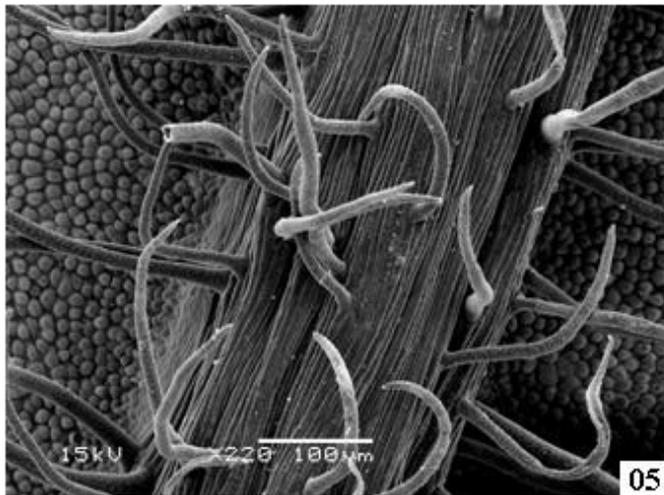
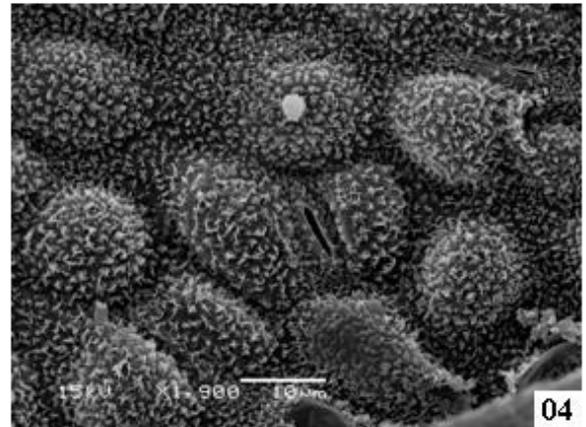
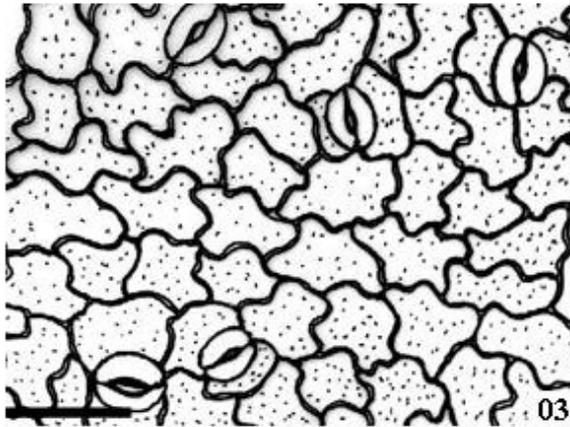
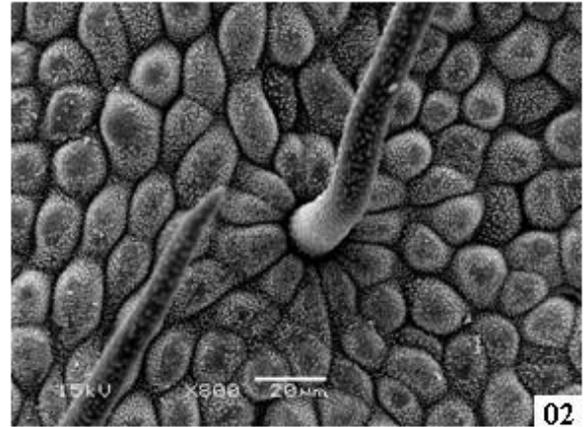
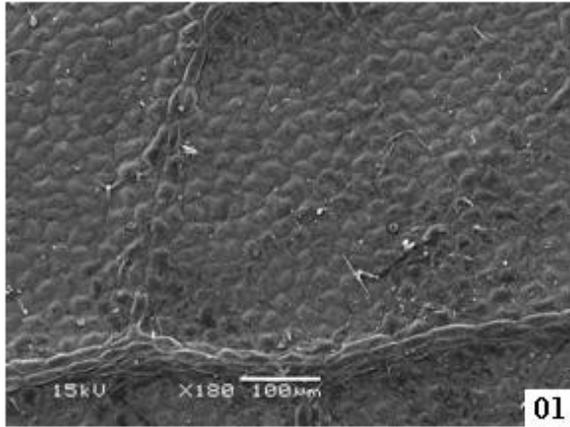
<i>Bauhinia forficata</i>	<b>Campo</b>	<b>CV%</b>	<b>Bosque</b>	<b>CV%</b>
Massa fresca foliar (g)	0,83 ( $\pm 0,40$ ) A	47,6	0,89 ( $\pm 0,22$ ) A	24,4
Massa seca foliar (g)	0,33 ( $\pm 0,15$ ) A	45,1	0,31 ( $\pm 0,07$ ) A	23,5
Conteúdo de água (g)	0,51 ( $\pm 0,25$ ) A	49,4	0,57 ( $\pm 0,15$ ) A	26,5
Área foliar (cm <sup>2</sup> )	39,9 ( $\pm 15,2$ ) B	38,1	58,8 ( $\pm 16,3$ ) A	28,4
Área específica foliar: AEF (cm <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	126,3 ( $\pm 15,7$ ) B	12,4	192,1 ( $\pm 49,0$ ) A	17,5
Densidade de estômatos da face adaxial (n <sup>o</sup> .mm <sup>-2</sup> )	176,1 (37,7) A	21,4	111,7 (26,5) B	23,7
Densidade de estômatos da face abaxial (n <sup>o</sup> .mm <sup>-2</sup> )	600,3 ( $\pm 124,6$ ) A	20,8	357,9 ( $\pm 30,8$ ) B	8,6
Densidade de tricomas (n <sup>o</sup> .mm <sup>-2</sup> )	56,5 ( $\pm 13,8$ ) A	24,4	53,7 (12,7) A	23,7
Densidade de drusas (n <sup>o</sup> .mm <sup>-2</sup> )	219,6 ( $\pm 44,7$ ) B	20,3	329,5 ( $\pm 48,9$ ) A	14,8
Densidade de cristais prismáticos (n <sup>o</sup> .mm <sup>-2</sup> )	354,1 ( $\pm 39,3$ ) B	11,1	426,1 ( $\pm 65,8$ ) A	15,4
Espessuras:				
• Total do limbo ( $\mu\text{m}$ )	130,1 ( $\pm 8,1$ ) A	6,26	100,8 ( $\pm 5,6$ ) B	5,6
• Mesofilo ( $\mu\text{m}$ )	96,2 ( $\pm 8,3$ ) A	8,60	73,2 ( $\pm 5,6$ ) B	7,2
• 1 <sup>o</sup> camada paliçádico ( $\mu\text{m}$ )	41,3 ( $\pm 5,0$ ) A	12,1	32,5 ( $\pm 3,3$ ) B	10,0
• 2 <sup>o</sup> camada paliçádico ( $\mu\text{m}$ )	31,1 ( $\pm 2,4$ ) A	7,6	22,8 ( $\pm 1,2$ ) B	5,4
• 3 <sup>o</sup> camada paliçádico ( $\mu\text{m}$ )	24,2 ( $\pm 1,4$ ) A	5,7	16,5 ( $\pm 1,9$ ) B	11,5
• Face abaxial da epiderme ( $\mu\text{m}$ )	15,3 ( $\pm 1,2$ ) A	8,0	13,9 ( $\pm 1,4$ ) B	9,9
• Face adaxial da epiderme ( $\mu\text{m}$ )	18,8 ( $\pm 1,9$ ) A	10,0	19,2 ( $\pm 1,2$ ) A	9,4
Clorofila a (nmol.cm <sup>-2</sup> )	26,2 ( $\pm 5,2$ ) A	20,0	37,6 ( $\pm 6,9$ ) A	18,3
Clorofila b (nmol.cm <sup>-2</sup> )	8,5 ( $\pm 2,02$ ) A	23,8	13,8 ( $\pm 2,5$ ) A	18,4
Clorofila Total (nmol.cm <sup>-2</sup> )	34,8 ( $\pm 0,2$ ) A	20,8	51,5 ( $\pm 9,3$ ) A	18,1
Razão clorofila a/b	3,1 ( $\pm 0,2$ ) A	6,4	2,73 ( $\pm 0,2$ ) A	6,2

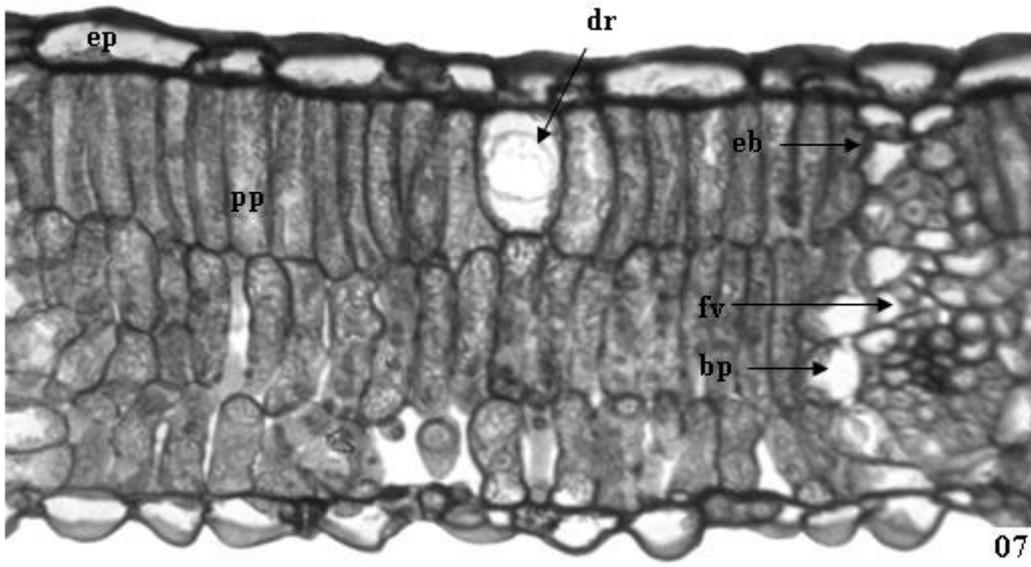
## Lista de figuras

Figuras 1-6. Folha de *B. forficata* em vista frontal. 1. Fotomicrografias em microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme adaxial. 2. Detalhe dos tricomas na epiderme abaxial em MEV. 3. Células epidérmicas da face abaxial. 4. Estômato na epiderme abaxial em MEV. 5. Tricomas na nervura de maior calibre, face abaxial. 6. Distribuição dos cristais no limbo foliar, destacando drusas (dr) e cristais prismáticos (cp). Barra= 100 $\mu$ m (1,5), 20 $\mu$ m (2), 50 $\mu$ m (3,6), 10 $\mu$ m (4).

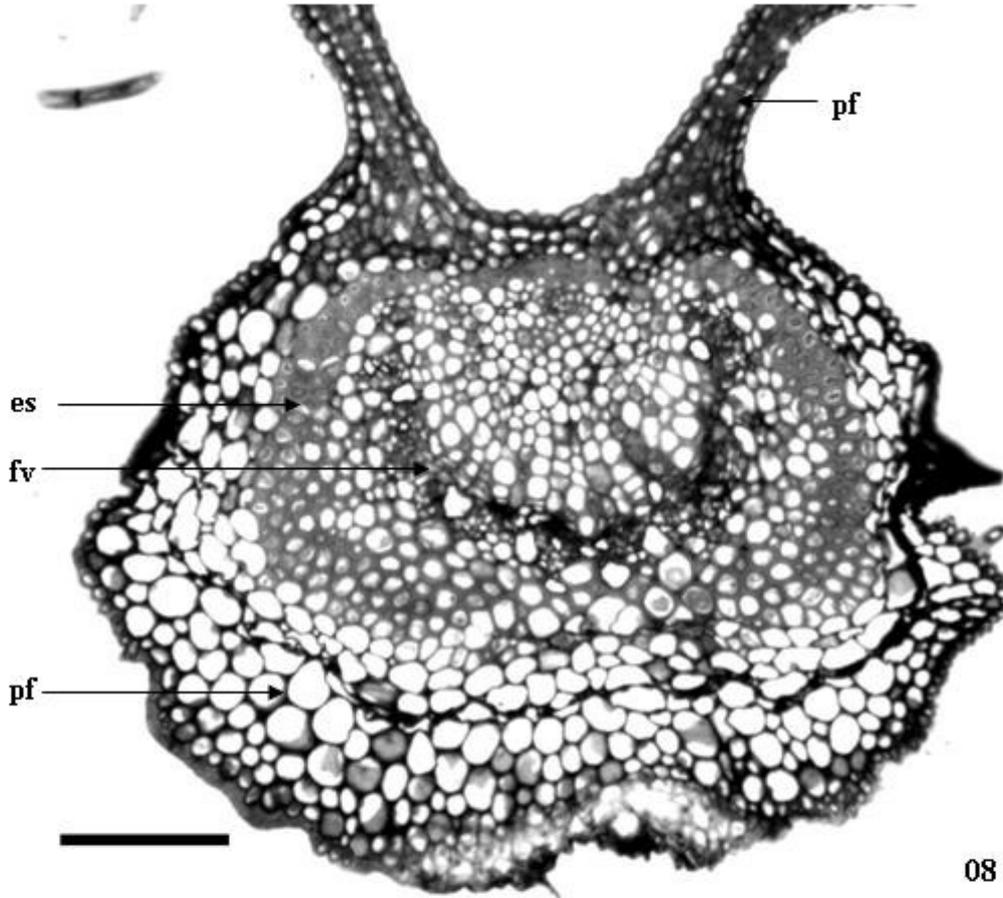
Figura 7 e 8. Secção transversal da folha de *B. forficata*. 7. Secção transversal do limbo evidenciando epiderme (ep), drusa (dr), parênquima paliçádico (pp), bainha parenquimática (bp), extensão de bainha (eb) e feixe vascular (fv). 8. Secção transversal da nervura central, destacando feixe vascular (fv), esclerênquima (es) e parênquima fundamental (pf).

Figura 9 a 11. Secções transversais do pecíolo de *B. forficata*. 9. Pecíolo evidenciando esclerênquima (es), feixes vasculares (fv), calota de fibras (cf) e parênquima fundamental (pf). 10. Detalhe do pecíolo, destacando feixe adaxial e calota de fibras. 11. Detalhe do feixe vascular central e esclerênquima. Barra= 200 $\mu$ m (9), 100 $\mu$ m (10), 50 $\mu$ m (11)

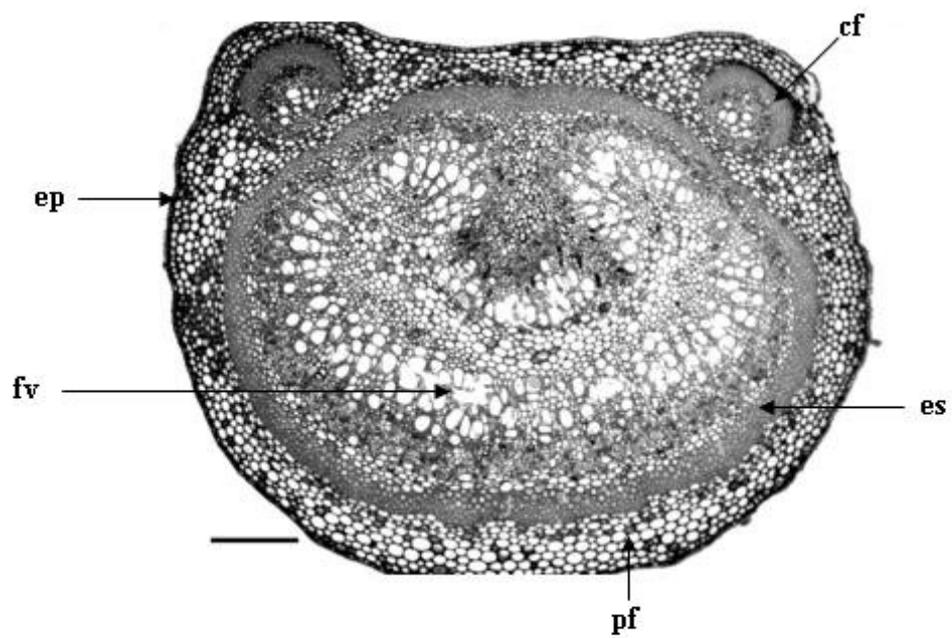




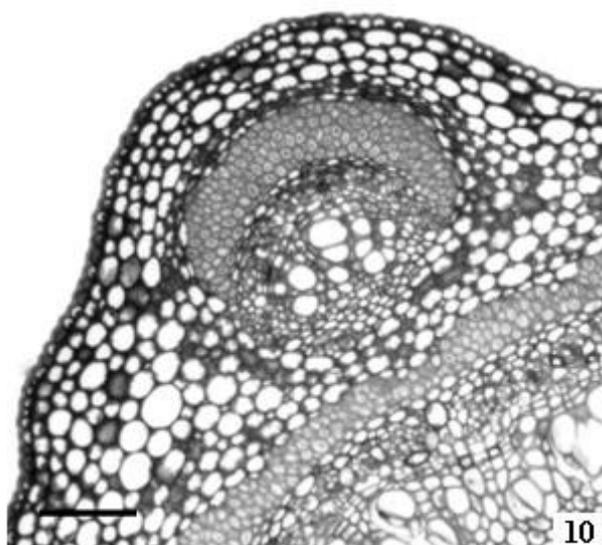
07



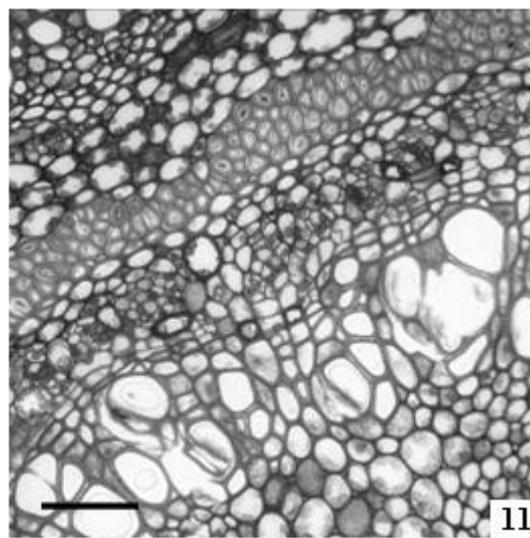
08



09



10



11

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando as condições distintas de luminosidade, as duas espécies apresentam estruturas e estratégias foliares contrastantes. *Mikania glomerata* ocorre em borda e interior de mata, apresenta hábito volúvel, mesofilo dorsiventral com parênquima paliçádico pouco desenvolvido. *Bauhinia forficata* ocorre em ambientes abertos e em floresta, é uma espécie arbórea e apresenta mesofilo homogêneo composto por células paliçádicas.

Ambas as espécies apresentaram, com base nos valores médios de área foliar e biomassa, maiores perspectivas de produtividade de massa verde no tratamento bosque.

A análise de principal componente mostrou, com base no conjunto de características analisadas, que para *M. glomerata* os tratamentos campo e meia sombra formam um grupo mais próximo, apesar da diferença de intensidade luminosa (respectivamente 100% e 26%) e composição vegetal que caracteriza estes tratamentos. Isto indica que a escolha de algumas técnicas de sombreamento artificial devem ser feitas com cautela pelo produtor, pois podem não fornecer o retorno imaginado.

A análise conjunta dos resultados aqui apresentados com estudos complementares que investiguem os possíveis efeitos dos tratamentos de luz nas taxas de crescimento da planta, biomassa total da parte aérea, quantidade de princípio ativo por unidade de massa e presença de herbivoria e pragas seriam importantes para o aprimoramento das técnicas de cultivo utilizadas pelo produtor para estas espécies.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DA CROCE, D.M.; HIGA, A.R.; FLOSS, P.A. Escolha de fontes de sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.) para Santa Catarina. Florianópolis: EPAGRI, EPAGRI. **Boletim Técnico**, n. 69, 23 p. 1994.

DEDECEK, R. A.; RODIGHERI, H. R. Sistemas de preparo do solo em cultivos anuais intercalados em erva-mate. **Boletim de Pesquisa EMBRAPA Floresta**, Colombo, n. 38, p. 77-88, 1999.

NADAL, R. D. Economicidade da erva-mate. In: **I Congresso Sul-Americano da erva-mate, II Reunião técnica do Cone Sul Sobre a Cultura da erva-mate**. p. 1-8, 1997.

CUNICO, M.M. **Estudos preliminares de toxicologia pré-clínica de *Pfaffia* sp.** Curitiba. Monografia (especialização em farmacologia) – Setor de Ciências biológicas, UFPR. 1997

TILMAN, D. **Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities**. Prinataw University Press, New Jersey. Monographs in population ecology. Cap.9, p. 301, 1988.

TOLEDO, A. C. O. **Estudo morfo-anatômico e fitoquímico, ensaios farmacopéicos e atividade antimicrobiana de órgãos subterrâneos e folha de *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae)**. Dissertação de Mestrado em Botânica, Universidade Federal do Paraná. 2004.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Breve histórico da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármacos segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó, p. 18-44, 2001.