

ANA CRISTINA ATALA ALVES

**EFEITO DAS DIFERENTES INTENSIDADES LUMINOSAS NA
MORFOANATOMIA FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES DE PLANTAS
MEDICINAIS EM CONSÓRCIO COM *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.
(Aquifoliacea).**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Botânica, Curso de Pós-Graduação em Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Regina Torres Boeger.

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Cecília de Chiaro Moço.

Co-orientador: Prof. M.Sc. Agenor Maccari Júnior.

CURITIBA
2006

Dedico este estudo com todo o meu amor e o meu carinho aos meus pais, Rosa e Antônio.

Agradecimentos

À Deus que é luz constante em meu caminho.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Maria Regina Torres Boeger, quem tanto admiro pela competência, agradeço pela orientação e por acreditar em minha capacidade e seriedade para a realização deste estudo.

Ao Departamento de Botânica da UFPR pela infraestrutura fornecida, pela competência dos professores e prestatividade dos funcionários.

À Fernanda Lessa-Rickli pelo apoio e espaço concedido para a realização deste estudo.

À Fundação Araucária pelo financiamento.

À co-orientadora Prof.^a Dr.^a Maria Cecília de Chiaro Moço, pelo incentivo, pela ajuda na confecção das pranchas e pelas contribuições na descrição anatômica.

Ao co-orientador Prof. Dr. Agenor Maccari Júnior pelas atividades de coleta e ao Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann pelas análises do solo.

Ao amigo Nilson Belém Filho, quem tanto admiro pela competência e profissionalismo, por toda ajuda dispensada e por todo apoio, tão importantes para a realização deste estudo.

À Capes pela concessão de bolsa de pesquisa.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR e sua equipe pela receptividade e auxílio no preparo do material e fotografias.

À coordenadora do departamento de pós-graduação em Botânica Prof.^a Dr.^a Thelma Alvim Ludwig, pela receptividade agradável e pelo incentivo desde a primeira conversa.

Ao Prof. Dr. William Rodrigues pela boa vontade e paciência em esclarecer dúvidas nomenclaturais e à Prof.^a Dr.^a Kátia Ribas pelo incentivo e pelo empréstimo de livros preciosos.

À Prof.^a Dr.^a Cleusa Bona pelas correções de relatórios, pelas dúvidas esclarecidas, por conceder espaço físico para a digitação desta dissertação e pela participação na banca.

À inesquecível amiga e companheira de laboratório, Renata Maria Gluzezak, a minha admiração é total. Como foi bom trabalhar ao seu lado.

À amiga Juliana Mayer por todo o apoio e auxílio nas fotografias e pelas inúmeras conversas construtivas.

Às amigas, Gisele Salvador, pela companhia sincera e por me conceder a oportunidade de conhecer a legítima “terra roxa”, e Cíntia Sakagami pela agradável convivência e pela paciência em esclarecer dúvidas sobre as Pteridófitas.

Aos demais colegas do mestrado, Tiago Daros, Cristine Gobel Donha, Giovana Alcantra, Priscila Tremarim, Daniella Atab, Pedro Bond, Igor Rezende, Dieter Liebsch, Daniela Correia da Maia, Rodrigo Volpi, Michella Yamamura, Juliano Cordeiro, Juliany Bitencourt e aos colegas mais recentes, Cleto Pires, Elton Assis, Leonardo Von Linsingen, Eloési Machado dos Santos e Júlio Costin. Obrigada pelo carinho e pela boa convivência.

Aos colegas de laboratório, Letícia Larcher, Ciane Biu, Lua, Camila e o casal, Letícia Estela Cavachiolo e em especial, Ari Espíndola Júnior, pelo auxílio na quantificação da clorofila e pela ajuda como o programa de estatística. Obrigada por compartilhar momentos tão agradáveis sempre que nos reuníamos.

Aos funcionários, José Augusto, Raul Kromann, Narciso Augusto Suckow, Renato Arthur, Elizabeth R. da Silva, e em especial, ao funcionário José Carlos Teixeira, pela prestatividade, competência e boa convivência durante estes anos de estudo.

Às bibliotecárias do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, em especial, à Telma Stresser, obrigada por todo o auxílio.

Aos meus pais, Rosa e Antônio, pelo amor, amizade, apoio, inúmeras conversas e incentivo incondicional em todos os momentos.

À tia e amiga, Lucy Atala, ao meu irmão Antônio Márcio e a todos os meus familiares e amigos que tanto me apoiaram.

Às amigas e companheiras de moradia Mirelle Miranda Furtado, quem me acolheu com tanto carinho, Flávia de Paula, Dayane Alberton e Therys, obrigada pela amizade sincera.

Ao meu noivo David, pelo carinho e por não permitir que os dias cinzentos entristecessem o meu coração.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	1
2 MATERIAL E MÉTODOS	4
2.1 Descrição das espécies estudadas.....	4
2.2 Localização e descrição do experimento.....	6
2.2.1 Instalação do experimento.....	6
2.3 Análise do solo.....	9
2.4 Coleta e processamento do material.....	9
2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	11
2.6 Testes microquímicos.....	12
2.7 Análise estatística.....	12
3 RESULTADOS	13
3.1 Descrição morfológica e anatômica de <i>Maytenus ilicifolia</i>	13
3.2 Descrição morfológica e anatômica de <i>Vitex megapotamica</i>	18
3.3 Variáveis quantitativas de <i>Maytenus ilicifolia</i>	23
3.4 Variáveis quantitativas de <i>Vitex megapotamica</i>	27
3.5 Análise do solo.....	31
4 DISCUSSÃO	32
4.1 Análise qualitativa.....	32
4.1.1 <i>Maytenus ilicifolia</i>	32
4.1.2 <i>Vitex megapotamica</i>	35
4.2 Análise quantitativa.....	37
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Vista geral do experimento na Fazenda Capão Bonito.....	7
FIGURA 2	Detalhe de um indivíduo de <i>Maytenus ilicifolia</i> situado no experimento na Fazenda Capão Bonito.....	7
FIGURA 3	Detalhe de um indivíduo de <i>Vitex megapotamica</i> situado no experimento na Fazenda Capão Bonito.....	7
FIGURA 4	Croqui do experimento com disposição das plantas consorciadas nos três tratamentos de luminosidade: sol (Campo), Meia sombra (Subosque de mata alterada) e Sombra (Bosque).....	8
FIGURA 5	Aspecto da folha de <i>Maytenus ilicifolia</i> . (a) Tratamento sol, (b) Tratamento meia sombra, (c) Tratamento sombra.....	15
FIGURA 6	Vista frontal da face adaxial da epiderme da folha de <i>Maytenus ilicifolia</i> do tratamento sol.....	15
FIGURA 7	Vista frontal da face abaxial da epiderme da folha de <i>Maytenus ilicifolia</i> evidenciando estômato e cristal.....	15
FIGURA 8	Eletromicrografia em microscopia eletrônica de varredura da superfície abaxial da folha de <i>Maytenus ilicifolia</i> do tratamento sol evidenciando estômato.....	15
FIGURA 9	Eletromicrografia em microscopia eletrônica de varredura da superfície abaxial da folha de <i>Maytenus ilicifolia</i> do tratamento sol com detalhe de um estômato.....	15
FIGURA 10	Secção transversal do limbo da folha de <i>Maytenus ilicifolia</i> do tratamento sol.....	16
FIGURA 11	Secção transversal do limbo da folha de <i>Maytenus ilicifolia</i> do tratamento meia sombra.....	16
FIGURA 12	Secção transversal do limbo da folha de <i>Maytenus ilicifolia</i> do tratamento sombra.....	16
FIGURA 13	Secção transversal da nervura central da folha de <i>Maytenus ilicifolia</i> do tratamento sol.....	17
FIGURA 14	Aspecto do folíolo de <i>Vitex megapotamica</i> . (a) Tratamento sol, (b) Tratamento meia sombra, (c) Tratamento sombra.....	20
FIGURA 15	Vista frontal da face adaxial da epiderme do folíolo de <i>Vitex megapotamica</i> do tratamento sol.....	20

FIGURA 16	Vista frontal da face abaxial da epiderme do folíolo de <i>Vitex megapotamica</i> do tratamento sol com detalhe de um estômato.....	20
FIGURA 17	Eletrmicrografia em microscopia eletrônica de varredura da região da nervura central da superfície abaxial do folíolo de <i>Vitex megapotamica</i> do tratamento sol evidenciando tricoma tector.....	20
FIGURA 18	Eletrmicrografia em microscopia eletrônica de varredura da superfície abaxial do folíolo de <i>Vitex megapotamica</i> do tratamento sol evidenciando tricoma glandular e estômato.....	20
FIGURA 19	Secção transversal do limbo do folíolo de <i>Vitex megapotamica</i> do tratamento sol.....	21
FIGURA 20	Secção transversal do limbo do folíolo de <i>Vitex megapotamica</i> do tratamento meia sombra.....	21
FIGURA 21	Secção transversal do limbo do folíolo de <i>Vitex megapotamica</i> do tratamento sombra.....	21
FIGURA 22	Secção transversal da nervura central do folíolo de <i>Vitex megapotamica</i> do tratamento sol.....	22

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Valores médios, desvios padrão e coeficientes de variação da área foliar, massa fresca, massa seca, conteúdo de água, área específica foliar e densidade estomática das folhas de <i>Maytenus ilicifolia</i> nos três tratamentos de luz.....	25
TABELA 2	Valores médios, desvios padrão e coeficientes de variação dos conteúdos de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , clorofila total e clorofila <i>a/b</i> nas folhas de <i>Maytenus ilicifolia</i> nos três tratamentos de luz.....	25
TABELA 3	Valores médios, desvios padrão e coeficientes de variação das espessuras da cutícula da face adaxial da epiderme, da face adaxial da epiderme, do parênquima paliçádico, das 1ª e 2ª camadas do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso, da face abaxial da epiderme, da cutícula da face abaxial da epiderme e da espessura total da lâmina das folhas de <i>Maytenus ilicifolia</i> nos três tratamentos de luz.....	26
TABELA 4	Valores médios, desvios padrão e coeficientes de variação da área foliar, massa fresca, massa seca, conteúdo de água, área específica foliar, densidade estomática e densidade de tricomas dos folíolos de <i>Vitex megapotamica</i> nos três tratamentos de luz.....	29
TABELA 5	Valores médios, desvios padrão e coeficientes de variação dos conteúdos de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , clorofila total e clorofila <i>a/b</i> nos folíolos de <i>Vitex megapotamica</i> nos três tratamentos de luz.....	29
TABELA 6	Valores médios, desvios padrão e coeficientes de variação das espessuras da cutícula da face adaxial da epiderme, da face adaxial da epiderme, do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso, da face abaxial da epiderme, da cutícula da face abaxial da epiderme e da espessura total da lâmina dos folíolos de <i>Vitex megapotamica</i> nos três tratamentos de luz.....	30
TABELA 7	Características principais dos tratamentos testados em relação à vegetação e fertilidade do solo.....	31

RESUMO

Este estudo é parte de um projeto mais amplo que visa determinar a viabilidade econômica de plantios de espécies medicinais consorciadas com *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (Aquifoliaceae) em reflorestamentos sob diferentes condições de luminosidade. O objetivo geral do presente trabalho foi fornecer subsídios para a escolha do melhor regime de luz para o plantio das espécies medicinais, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. (Celastraceae) e *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (Verbenaceae). O objetivo específico foi analisar alterações morfoanatômicas nas folhas destas espécies em três condições de luz. A maioria das plantas medicinais apresenta a maior concentração de princípios ativos nas folhas, sendo, portanto, os principais órgãos comercializados e os que mais respondem à captação da energia luminosa, podendo apresentar, em função da luminosidade, alterações fisiológicas e morfoanatômicas. O experimento foi instalado na fazenda Capão Bonito (25° 50' 64" S/ 49° 43' 69" W) (Município de Castro, PR), e é caracterizado por três tratamentos distintos de luz obtidos através do manejo da cobertura vegetal natural do local: 1- Sol pleno (100% de luminosidade); 2- Meia sombra (26,23% de luminosidade); 3- Sombra (13,83% de luminosidade). Folhas adultas de *M. ilicifolia* e folíolos adultos de *V. megapotamica* foram coletados nos diferentes tratamentos e parte deste material foi fixado em FAA 70 e posteriormente conservado em álcool 70°. Foi realizada a mensuração das seguintes variáveis: área foliar, área específica foliar (AEF), massa fresca e seca, densidade estomática e de tricomas, espessura dos tecidos e quantificação das concentrações de clorofilas *a*, *b* e total. Para avaliar a diferença significativa de cada variável entre os três tratamentos de luz utilizou-se ANOVA (análise de variância). Os valores médios da AEF, densidade estomática, espessura da cutícula de ambas as faces da lâmina, espessura da face abaxial da epiderme e espessura total da lâmina das folhas de *M. ilicifolia* diferiram no tratamento sombra comparado aos demais tratamentos. Para *V. megapotamica*, os valores médios da AEF, densidade estomática, espessura do parênquima paliçádico total e espessura total da lâmina diferiram no tratamento sombra quando comparado aos demais tratamentos. As concentrações de clorofilas *b* e total foram maiores para as folhas de *M. ilicifolia* e menores para as folhas de *V. megapotamica* no tratamento sol. De acordo com os dados obtidos no presente trabalho, apesar de não ter sido constatado diferenças significativas entre os valores médios da massa seca nas folhas das duas plantas estudadas nos três tratamentos de luz, as folhas mais espessas de *M. ilicifolia* e *V. megapotamica* desenvolvidas sob sol pleno e meia sombra, parecem prover maior quantidade de massa seca, em função do maior desenvolvimento dos tecidos clorofilianos. Contudo, para se indicar ao produtor de espécies medicinais a condição de luz mais adequada para o cultivo destas espécies, os resultados obtidos no presente trabalho devem ser associados aos resultados referentes à quantificação de princípio ativo produzido nas folhas das duas espécies medicinais nos três tratamentos de luz.

Palavras-chave: Morfoanatomia foliar, luminosidade, *Maytenus ilicifolia*, *Vitex megapotamica*.

ABSTRACT

The present study is part of a larger research project whose goal is to determine the economic viability of culturing medicinal plants in association with *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Aquifoliaceae) in reforestations under different light conditions. The general objective of the present study is to provide, together with the remaining research areas of the larger project, information on the assessment of the best luminosity regime for the plantation of medicinal species *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. (Celastraceae) and *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (Verbenaceae). The specific goal was to analyze morphoanatomical changes in the leaves of those species under three light conditions. In general, leaves of medicinal plants, in addition to being the main plant organs of commercial value for containing the highest concentration of the active principle, are also the plant structures that are responsible for the acquisition of light energy, and thus can show physiological and morphoanatomical changes due to shifts in luminosity. The experiment was set up in the Fazenda Capão Bonito (25°50'64" S and 49°43'69" W) in the Municipality of Castro, State of Paraná, being characterized by three distinct light treatments according to the management of the natural plant cover in the respective site: 1 – Full sunlight (100% luminosity); 2 – Half-shade (26.23% luminosity); and 3 – Full shade (13.83% luminosity). Adult leaves of *M. ilicifolia* adult folioles of *V. megapotamica* from the different treatments and part of this material was fixated in 70 FAA and later preserved in 70 ethanol. The following measurements were recorded: leaf area, specific leaf area (SLA), fresh and dry mass, stomata and trichome densities, tissue thickness, and chlorophyll concentration (*a*, *b*, and total). An analysis of variance (ANOVA) was used to evaluate the differences of each variable among the different light treatments. Average SLA, stomata density, cuticle thickness in both sides of the leaf, thickness of the abaxial epidermis, and the total thickness of the leaves of *M. ilicifolia* differed significantly between the full-shade and the other treatments. In the case of *V. megapotamica*, average SLA, stomata density, total thickness of the palisade parenchyma, and the total leaf thickness differed significantly between the full-shade and the other treatments. The concentration of *b* and total chlorophyll were higher in leaves of *M. ilicifolia* and lower in leaves of *V. megapotamica* in the full-sun treatment. According to the results of the present study, although there were no significant differences in the average dry mass of leaves of both species among the three light treatments, the thicker leaves of *M. ilicifolia* and *V. megapotamica* grown in full sun and half shade seem to provide higher quantities of green mass due to the higher development of chlorophyllian tissues. However, in order to recommend the producer of medicinal plants the most appropriate light condition for growing these species, the results obtained in the present study must be associated with the results regarding the quantification of the active principle produced in the leaves of the two medicinal plant species under the three light treatments.

Key-words: leaf morfoanatomy, light, *Maytenus ilicifolia*, *Vitex megapotamica*.

1 INTRODUÇÃO

A luz é um dos mais importantes fatores abióticos que afeta a fisiologia e a morfologia das folhas. Os ajustes fisiológicos que ocorrem neste órgão são relacionados principalmente à maior eficiência nos processos fotossintéticos, isto é, captura de maior quantidade de CO₂ com o mínimo desperdício de água e energia (TAIZ; ZEIGER, 2004). Conseqüentemente, as folhas desenvolvem características estruturais que melhoram a sua capacidade neste processo (DALE, 1992; VOGELMANN; NISHIO; SMITH, 1996; SMITH et al., 1997) e possibilitam uma maior produtividade do vegetal.

As espécies apresentam diversas respostas frente às condições ambientais de acordo com a amplitude fenotípica que possuem. A amplitude fenotípica de uma espécie vegetal comumente se revela nas estratégias desenvolvidas pelas plantas, representadas por alterações morfoanatômicas que ocorrem de acordo com a condição ambiental em que se encontram (WESTOBY et al., 2002). Em relação à luz, as adaptações das plantas dependem do ajuste no aparelho fotossintético, principalmente localizado nas folhas dos vegetais (LEWIS, 1972; SMITH et al., 1997). A folha é o órgão da planta que possui estrutura grandemente influenciada pelo nível de luz durante o seu crescimento e que mais sofre alterações em resposta ao ambiente (THOMPSON; KRIEDEMANN; CRAIG, 1992; DICKISON, 2000; HLWATIKA; BHAT, 2002). O padrão de alterações ultraestruturais e morfoanatômicas foliares pode variar entre as espécies (MILANEZE-GUTIERRE; MELLO; DELAPORTE, 2003), podendo ser quantitativamente significativo (ALVARENGA et al., 2003) ou não (SERT, 1991).

As modificações morfoanatômicas que comumente ocorrem nas folhas decorrentes das variações das intensidades luminosas às quais estão expostas, são a base para se diferenciar uma folha de sol de uma folha de sombra (SMITH et al., 1997; HINSBERG; TIENDEREN, 1997; SANTIAGO et al., 2001; YANO; TERASHIMA, 2004). Folhas que crescem e se desenvolvem em um ambiente mais ensolarado, comumente denominadas folhas de sol, apresentam, geralmente, algumas características anatômicas que lhes são peculiares como, por exemplo: paredes das células epidérmicas mais retas, maior número de estômatos, mesofilo mais espesso e sistema vascular mais denso (MEDRI; LLERAS, 1980; MARQUES;

GARCIA; FERNANDES, 1999). Freqüentemente, as folhas expostas ao sol, são pequenas e estreitas, portanto possuem menor área foliar (CLABBY; OSBORNE, 1997).

Em contrapartida, folhas que se desenvolvem em um ambiente mais sombreado, comumente denominadas folhas de sombra, tendem a apresentar estômatos em menor quantidade por unidade de área (KNECHT; O'LEARY, 1972; KLICH, 2000), menor espessura do mesofilo (MILANEZE-GUTIERRE; MELLO; DELAPORTE, 2003) e maiores áreas foliares (HINSBERG; TIENDEREN, 1997).

Nas plantas medicinais, como as espécies vegetais em estudo, são nas folhas que se encontram o produto de interesse e, por isso, são os principais órgãos envolvidos na comercialização, o que torna importante a análise dos efeitos dos diferentes níveis de luminosidade sobre a estrutura anatômica e morfológica deste órgão (MILANEZE-GUTIERRE; MELLO; DELAPORTE, 2003; MONTANARI et al., 2004). As informações sobre a morfologia e anatomia das folhas podem subsidiar a melhoria da qualidade de produção das espécies em estudo.

Vários estudos relacionam as alterações estruturais de folhas de sol e sombra e tais variações morfológicas são amplamente conhecidas tanto para espécies nativas (SMITH; NOBEL, 1978; ASHTON; BERLYN, 1992; MARQUES; GARCIA; FERNANDES; 1999; KLICH, 2000) como para espécies de interesse agrônômico (JURIK; CHABOT; CHABOT, 1982; SANTIAGO et al., 2001; GIANOLI, 2002; MORAIS et al., 2004). No entanto, são poucos os estudos que relacionam a estrutura foliar, sob diferentes condições de luminosidade com a produção de matéria seca verde, interesse primário dos produtores de plantas medicinais. Esta produção está diretamente relacionada com as condições ambientais onde as plantas se desenvolvem, como a luz e as condições nutricionais do solo.

Este trabalho é parte de um projeto mais amplo, denominado Exploração Sustentável da Erva-mate, que tem como objetivo determinar a viabilidade econômica de plantios da erva-mate em diferentes condições, incluindo áreas de recuperação de vegetação nativa, avaliar o valor agregado à erva-mate e gerar subsídios para estimular a economia nas pequenas propriedades rurais paranaenses.

O estudo baseou-se num experimento com plantio de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em consórcio com quatro espécies medicinais nativas (*Maytenus*

ilicifolia Martius ex Reissek, *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke, *Mikania glomerata* Spreng. e *Bauhinia forficata* Link) em remanescentes de Floresta Ombrófila Mista, sob três condições naturais de luminosidade.

Este estudo objetivou, através da análise morfoanatômica foliar sob a influência de diferentes intensidades luminosas, gerar informações que subsidiem a melhoria da qualidade da produção de plantas medicinais nativas em consórcio com a erva-mate.

Neste trabalho são apresentados os resultados referentes ao estudo morfonatômico foliar de duas espécies: *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reissek e *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke, que se desenvolveram sob três regimes distintos de luz.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Descrição das espécies estudadas

Maytenus ilicifolia Mart. ex Reiss. pertence à família Celastraceae e é conhecida popularmente como espinheira-santa, assim também como cancerosa, cancoroso, cancosa, congora, coromilho do campo, erva cancerosa, espinheira divina, espinho de Deus, limãozinho, maiteno, pau José, salva-vidas, sombra de touro (CORRÊA JR ; MING; SCHEFFER, 1991). O Gênero *Maytenus* abrange um grande número de espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de todo mundo. *Maytenus ilicifolia* é uma espécie nativa da região Sul do Brasil, natural da Floresta Ombrófila Mista ou Mata com Araucária. Ocorre predominantemente em várzeas aluviais e beira de córregos com solos argilosos profundos de drenagem lenta (LORENZI, 1998) ou em solos rasos, férteis e bem drenados, como os solos em processos de sedimentação e gleização (RADOMSKI et al., 2004).

Maytenus ilicifolia possui hábito arbóreo-arbustivo, podendo medir de 1 a 5 m de altura, floresce durante os meses de agosto a outubro e os frutos amadurecem entre os meses de janeiro a março (LORENZI, 1998). O uso da espinheira-santa na medicina popular está baseado na sua ação no combate a dispepsias e gastralgias hiperclorídricas no estômago, assim como na prevenção de fermentações e formações de gases no intestino. Possui ainda ação analgésica, sendo indicada na hiperacidez gástrica, particularmente no tratamento das úlceras gástricas, pilóricas e duodenais. Segundo MARQUESINI (1995), em um estudo realizado com plantas medicinais usadas por índios do Paraná e Santa Catarina, foi verificada a ação de *M. ilicifolia* como cicatrizante e antiinflamatório sobre ferimentos, diarreia, câncer de pele e na indução de menstruação.

Vitex megapotamica (Spreng.) Moldenke pertence à família Verbenaceae e é conhecida pelos nomes populares de tarumã, azeitona-do-mato, tapinhoan, tarumã-preta, tarumã-de-montevideu, tarumã-do-mato, tarumã-azeitona, azeitona brava, azeitona-da-terra, tarumã-romã e sombra de touro (REITZ; KLEIN; REIS, 1983; PIO

CORRÊA, 1984). É nativa da região Sul do Brasil, predominante da Floresta Ombrófila Mista ou Mata com Araucária. Ocorre naturalmente desde Minas Gerais e Mato Grosso do Sul até o Rio Grande do Sul, nas Florestas de Araucária e de altitude e semi-decíduais. É encontrada também no Uruguai, Paraguai e Argentina (LORENZI, 1998)

Vitex megapotamica é bastante utilizada na arborização de ruas e parques. Possui hábito arbóreo e pode atingir até 20 m de altura, com tronco de 40 a 80 cm de diâmetro (INOUE; RODERJAN; KUNIYOSHI, 1984). Possui folhas compostas 3-7 foliadas, sendo mais freqüente as compostas digitadas (com 5 folíolos). Seus folíolos coriáceos podem atingir de 5 a 9 cm de comprimento e possuem nervuras bastante salientes na face inferior (PIO CORRÊA, 1984).

Vitex megapotamica é uma planta decídua, heliófita, indiferente às condições físicas do solo, característica das florestas de altitude e da bacia do Paraná. Pode ser encontrada em vários ambientes, com solos muito secas, pedregosos e até muito úmidos nas matas de galeria. É uma espécie considerada secundária que comumente ocupa áreas encharcadas permanentemente, ou áreas com inundação temporária, sendo indicada para recuperação de matas ciliares (MARTINS, 2001). Ocorre tanto no interior da mata primária densa como em formações abertas e secundárias, predominando nas beiras de rios. Produz anualmente grande quantidade de sementes viáveis e é amplamente disseminada pela fauna. É uma espécie que perde parcialmente as folhas na seca. Os frutos amadurecem entre os meses de janeiro a março e são caracterizados como drupas carnosas, arroxeadas quando maduras, mucilaginosas, arredondadas ou ovaladas, de 1 a 2 cm de comprimento, comestíveis, adocicadas, muito procuradas pela fauna, usadas até como isca para pescaria. Floresce entre os meses de outubro a dezembro e suas flores são melíferas. As folhas em infusão são usadas no combate ao colesterol, como diurético e depurativo do sangue (LORENZI; MATOS, 2002).

2. 2 Localização e descrição do experimento.

O experimento foi instalado desde 2003 na fazenda Capão Bonito (latitude 25° 50' 64" S, longitude 49° 43' 69" W e 836 m de elevação) no Município de Castro, Estado do Paraná. A área apresenta diferentes tipos de cobertura vegetal, com áreas de campo, mata nativa com remanescentes da Floresta Ombrófila Mista e reflorestamento por *Pinus* sp.

2.2.1 Instalação do experimento

O experimento consistiu de três tratamentos distintos de luz: sol (campo), meia sombra (subosque) e sombra (bosque). Cada tratamento foi subdividido em 3 parcelas (parcela1, parcela 2 e parcela 3) que foram demarcadas cada uma por uma estaca (figura 1). Em cada um dos tratamentos foram plantadas 9 mudas de plantas das seguintes espécies: *Bauhinia forficata* Link., *Ilex paraguariensis* St. Hil., *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss (figura 2), *Mikania glomerata* Spreng., e *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (figura 3), totalizando 45 indivíduos por tratamento.

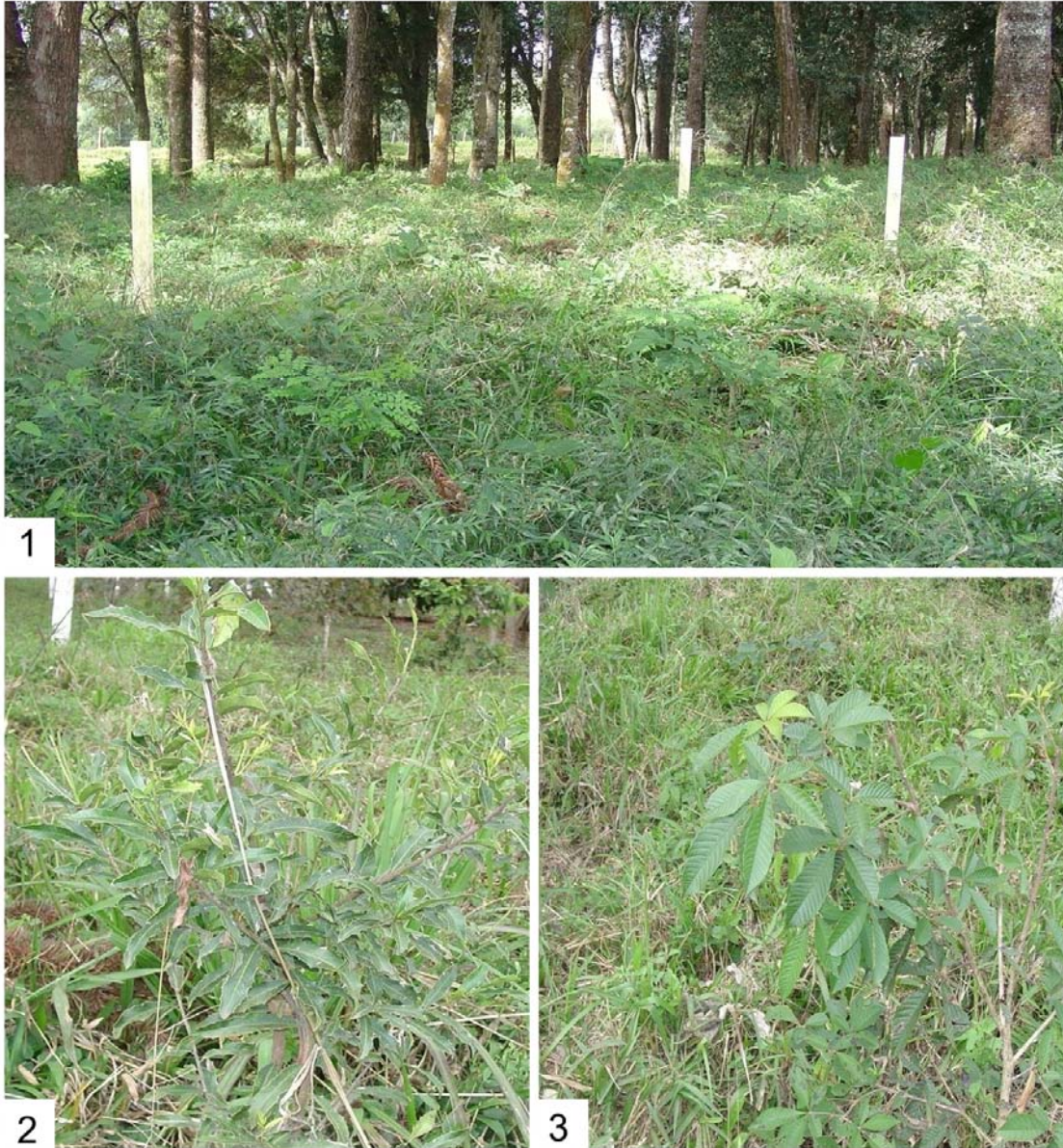
A disposição das plantas no experimento está apresentada na figura 4.

Os três tratamentos se diferenciaram em relação à luminosidade da seguinte forma (LESSA-RICKLI et al., 2003):

1- Sol pleno: são áreas de campo, onde predominou vegetação rasteira/herbácea, com a característica principal de não interferirem na radiação luminosa sobre as espécies medicinais plantadas; com intensidade luminosa de 100%.

2- Meia sombra: são áreas de mata ou subosque com menor incidência de luz que no tratamento 1; com intensidade luminosa de 26, 23%.

3- Sombra: são áreas de bosque ou mata mais densa, há maior sombreamento em relação aos tratamentos anteriores; com intensidade luminosa de 13,83%.



Figuras 1-3: Local de instalação do experimento na Fazenda Capão Bonito, Município de Castro, PR. **1.** Vista geral do experimento. **2.** Detalhe de um indivíduo de *Maytenus ilicifolia*. **3.** Detalhe de um indivíduo de *Vitex megapotamica*.

TRATAMENTOS			
	SOL (CAMPO)	MEIA SOMBRA (SUBOSQUE DE MATA ALTERADA)	SOMBRA (BOSQUE)
PARCELA 1	EM ES PV T G	EM ES PV T G	EM ES PV T G
	EM ES PV T G	EM ES PV T G	EM ES PV T G
	EM ES PV T G	EM ES PV T G	EM ES PV T G
PARCELA 2	EM ES PV T G	EM ES PV T G	EM ES PV T G
	EM ES PV T G	EM ES PV T G	EM ES PV T G
	EM ES PV T G	EM ES PV T G	EM ES PV T G
PARCELA 3	EM ES PV T G	EM ES PV T G	EM ES PV T G
	EM ES PV T G	EM ES PV T G	EM ES PV T G
	EM ES PV T G	EM ES PV T G	EM ES PV T G

Figura 4: EM - *Ilex paraguariensis* (Erva-mate); ES - *Maytenus ilicifolia* (Espinheira-santa); PV- *Bauhinia forficata* (Pata-de-vaca); T- *Vitex megapotamica* (Tarumã); G - *Mikania glomerata* (Guaco).

2.3 Análise do solo

O solo das diferentes parcelas foi coletado com trado do tipo holandês ao redor das plantas. A análise físico-química do solo foi realizada no Laboratório de Química e Fertilidade do DSEA-UFPR, utilizando a metodologia da EMBRAPA (1999).

2.4 Coleta e processamento do material

A coleta das folhas foi realizada no mês de dezembro de 2004, período no qual as espécies medicinais não estavam florescendo ou frutificando.

Por se tratar de um experimento a campo, não foi possível a coleta de um número uniforme de folhas para todos os indivíduos. Alguns tratamentos foram prejudicados pela intensa herbivoria, principalmente a coleta das folhas das plantas de *Vitex megapotamica* no tratamento sombra.

Para a análise da morfologia foliar foram coletadas um total de 102 folhas adultas de *M. ilicifolia* (34 folhas por tratamento) e 84 folíolos adultos de *V. megapotamica* (30 folíolos dos tratamentos sol e meia sombra e 24 folíolos do tratamento sombra) entre os 3° e 4° nós (sentido ápice-base dos ramos da planta). Considerando-se que *V. megapotamica* apresenta folha composta digitada, nesta espécie foi coletada o folíolo mediano (BONGERS; POPMA, 1988).

Vinte folhas por tratamento de *M. ilicifolia* e dez folíolos por tratamento de *V. megapotamica* foram prensados entre jornal e secas em estufa a temperatura de 65°C até atingirem massa constante. A massa seca (g) foi mensurada após a secagem das folhas com auxílio de balança analítica de precisão Modelo AS 210 Scientech com $\epsilon=0,001\text{g}$. A área Área foliar (cm^2) foi estimada a partir da imagem digitalizada em Scanner de mesa, acoplado ao computador, pelo software SIGMASCAN-PRO (versão 5.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 1995).

A área específica foliar ($\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$) foi calculada utilizando-se a seguinte relação: $\text{AEF}=\text{AF}/\text{MF}$, onde: $\text{AF}=\text{área foliar (cm}^2\text{)}$ e $\text{MF}=\text{massa seca foliar (g)}$ (WITKOWSKI; LAMONT, 1991).

A densidade estomática e de tricomas ($\text{n}^\circ. \text{mm}^{-2}$) foi efetuada utilizando-se a modelagem com esmalte de unha sintético incolor da epiderme na região mediana das folhas e folíolos que foram desidratados em estufa. As modelagens foram montadas entre lâmina e lamínula somente com água. As densidades estomáticas e de tricomas foram estimadas por meio de contagem numa área de 1mm^2 . Utilizou-se 2 campos por folha, totalizando 120 campos para *M. ilicifolia* e 60 campos para *V. megapotamica*. Para ambas espécies, a contagem de estômatos foi realizada na face abaxial das folhas, por se tratar de folhas e folíolos hipoestomáticos. Essas contagens foram feitas em microscópio óptico Olympus CBB, com câmara clara acoplada. A classificação dos tipos de estômatos e dos tipos de tricomas foi baseada na terminologia de FAHN (1990).

Para análise qualitativa da epiderme, amostras da região mediana das folhas e folíolos de cada um dos três tratamentos foram diafanizadas de acordo com a técnica de FRANKLIN (1946), que consiste de solução de água oxigenada 30 volumes e ácido acético glacial, na proporção de 1:1 em estufa a 60°C , até o material ficar completamente clarificado e dissociado. Em seguida, o material foi lavado e corado com Safranina a 1% em solução aquosa, sendo montado, em seguida, em gelatina glicerinada (O'BRIEN; McCULLY, 1981) e vedadas com esmalte de unha incolor.

Para a mensuração de tecidos do limbo foliar, oito folhas de *M. ilicifolia* e oito folíolos de *V. megapotamica*, por tratamento, foram fixados em FAA 70 (formaldeído, ácido acético, etanol 70%) na proporção de 1:1:18 v/v e, posteriormente, conservadas em álcool 70% (JOHANSEN, 1940). Para a montagem de lâminas semipermanentes, o material vegetal fixado foi seccionado transversalmente com lâmina de barbear, clarificado em hipoclorito de sódio 10%, corado com Azul de Toluidina 1% solução aquosa (SAKAI, 1973) montado em gelatina glicerinada (O'BRIEN; McCULLY, 1981) e vedado com esmalte de unha incolor.

Nas secções transversais da região mediana dos limbos foliares e foliolares foram medidas as espessuras (μm) da cutícula da face adaxial da epiderme, da face adaxial da epiderme, dos parênquimas paliçádico e lacunoso, da face abaxial da

epiderme, da cutícula da face abaxial da epiderme e da espessura total da lâmina. As medições foram realizadas em microscópio óptico Olympus CBB, com auxílio de ocular micrometrada.

Para a análise qualitativa dos limbos foliares, secções medianas das folhas previamente fixadas em FAA 70, foram incluídas em hidroxetilmetacrilato segundo FEDER e O'BRIAN (1968). Posteriormente, realizou-se a secção do material em micrótomo rotatório Olympus CUT 4055, na espessura de 5 μm . As secções foram coradas com Fucsina Básica a 0,0125% e Azul de Astra a 1% em solução aquosa (BRITO; ALQUINI, 1996) e montadas entre lâmina e lamínula com Entellan®.

Para a análise da clorofila, as amostras de folhas foram inicialmente acondicionadas em sacos plásticos escuros no local do experimento, ao abrigo da luz e armazenados em caixa de isopor para proteção contra altas temperaturas. Posteriormente, no laboratório, discos de 1cm² de diâmetro foram seccionados de 6 folhas por tratamento de *M. ilicifolia* e 6 folíolos por tratamento de *V. megapotamica* para a quantificação dos pigmentos foliares (clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total). A extração foi efetuada com acetona 80%, centrifugação do extrato em 2500 rpm e leitura de absorbância em espectrofotômetro Hitachi modelo U-2001 (Hitachi, Inc., São Francisco, Ca, USA), no laboratório de Ficologia do Departamento de Botânica, UFPR, sendo aplicado os coeficientes de extinção definidos por PORRA et al. (1989).

2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Amostras das regiões medianas do limbo foliar foram seccionadas (duas folhas por tratamento por espécie), desidratadas em série etílica crescente até etanol absoluto e secas via ponto crítico com CO₂ em equipamento Bal-Tec CPD 030. Essas amostras foram montadas em suporte metálico, fixadas com uma mistura de esmalte incolor e grafite, metalizadas com ouro, a vácuo, em equipamento Balzers union FL 9496 SCD 030. As observações e fotografias foram realizadas em

Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol (JSM 6360 LV) no Centro de Microscopia eletrônica da UFPR.

2.6 Testes microquímicos

Os testes microquímicos foram realizados em secções transversais da região do terço médio do limbo de cada espécie, por tratamento, através de secções obtidas à mão livre com auxílio de lâmina de barbear. A ocorrência de compostos lipídicos, amido e compostos fenólicos foi evidenciada pelo Sudan III (SASS, 1951), Lugol (BERLYN; MIKSCHE, 1976) e Cloreto Férrico (JOHANSEN, 1940), respectivamente.

2.7 Análise estatística

Os valores médios e respectivos desvios-padrão e coeficientes de variação de todas as variáveis quantitativas foram calculados. A Análise de Variância (ANOVA) foi calculada para comparar as folhas e os folíolos das plantas entre os três tratamentos de luz, utilizando-se o Programa Statistica (versão 6.0 StatSoft, 1nc., Tulsa, OK, USA, 2001), com um nível de significância de 5%. Para cada variável verificou-se a diferença significativa entre os tratamentos de luz, utilizando-se o teste de comparação múltipla LSD (menor diferença significativa) de Fisher. As variáveis espessura da cutícula tanto da face adaxial como da face abaxial do limbo de *M. ilicifolia* e a área foliar e o massa seca de *V. megapotamica* desviaram significativamente de uma distribuição normal. Para essas variáveis foi realizado o procedimento de transformação de médias, mesmo sabendo que a distribuição dos dados viola uma das pressuposições do teste de distribuição normal. Os resultados destas variáveis foram analisados pela variância dos dados ranqueados como teste K.S.d. (KOLMOGOROV SMIRNOV e LILLIEFORS TEST FOR NORMALITY) como uma alternativa não paramétrica.

3 RESULTADOS

3.1 Descrição morfológica e anatômica de *Maytenus ilicifolia*

Maytenus ilicifolia apresenta filotaxia alterna, folhas simples, simétricas, elípticas com base cuneada, ápice agudo, margem inteira com espinhos (figuras 5 a-c), textura coriácea e coloração verde acinzentado. As folhas são glabras e apresentam saliência da nervura central voltada para a face abaxial. Não foram observadas variações morfológicas entre os tratamentos.

Em vista frontal, as células epidérmicas, em ambas as faces, apresentam formato poliédrico, com paredes espessas e contorno reto a levemente ondulado (figuras 6 e 7). Registrou-se a presença de cristais prismáticos no interior destas células, tendo, aparentemente, maior ocorrência na face adaxial. Os estômatos são do tipo anomocítico e ocorrem somente na face abaxial, caracterizando a folha como hipoestomática (figuras 7-9).

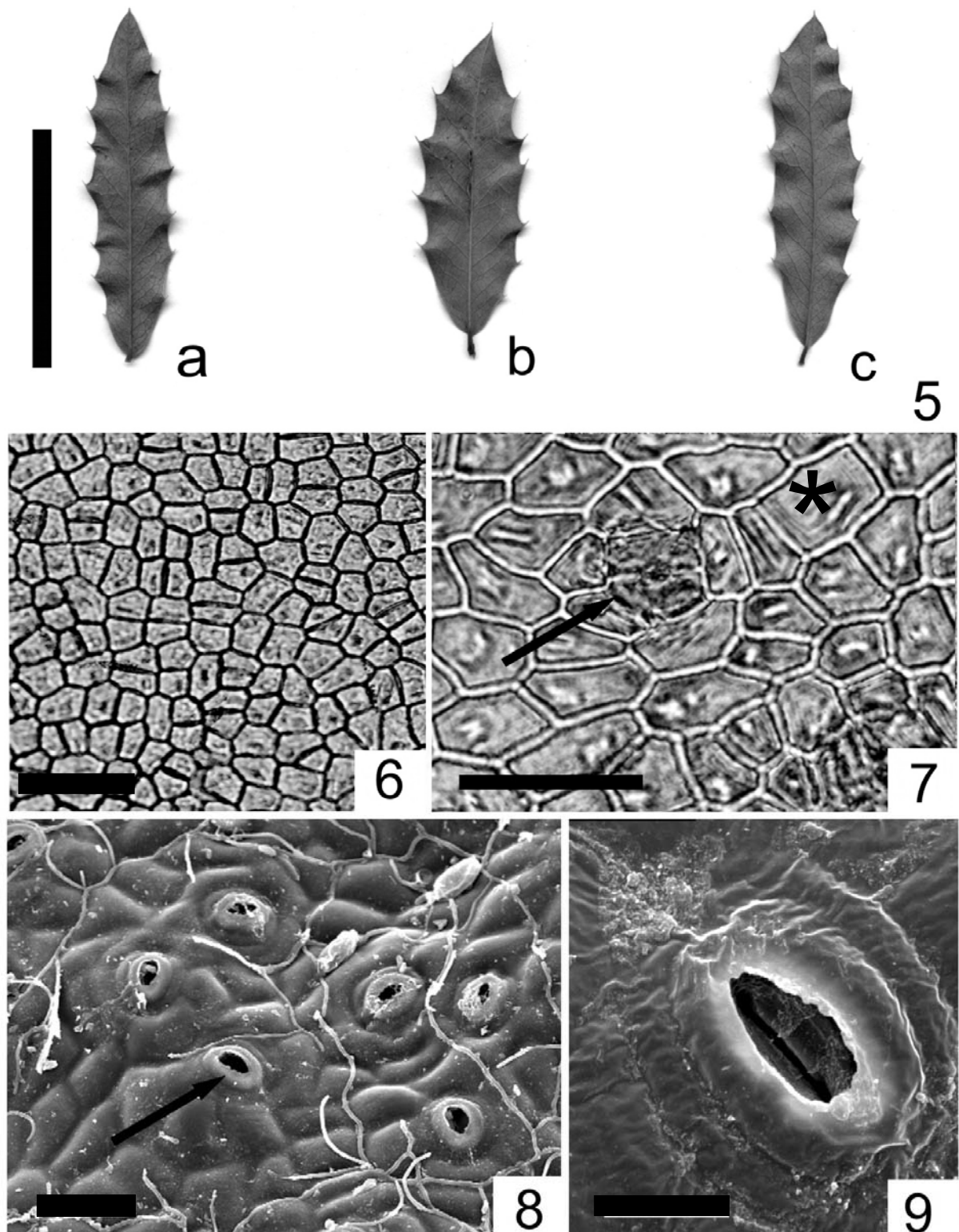
A epiderme é uniestratificada e suas células, em secção transversal, apresentam formato variado: retangular, arredondado e, às vezes, triangular, porém na face adaxial estas são mais alongadas periclinalmente (figuras 10-12), principalmente no tratamento sombra. A cutícula é bastante espessa. Não foram observadas diferenças na forma e tamanho celular das células epidérmicas entre os tratamentos.

O mesofilo é dorsiventral, formado por duas a três camadas de parênquima paliçádico justapostas e por quatro a seis camadas de parênquima lacunoso com células de formato irregular. O parênquima paliçádico, nas folhas dos tratamentos sol e meia sombra, possui até três camadas de células (figuras 10 e 11), enquanto que no tratamento sombra, o número de camadas não ultrapassou a dois (figura 12). A camada de células do parênquima lacunoso mais próxima à face abaxial da folha apresenta suas células com menor quantidade de espaços intercelulares, de tal maneira que se dispõem formando uma fileira paralela à superfície, principalmente nos tratamentos sol e meia sombra (figuras 10 e 11). Já, nas folhas do tratamento

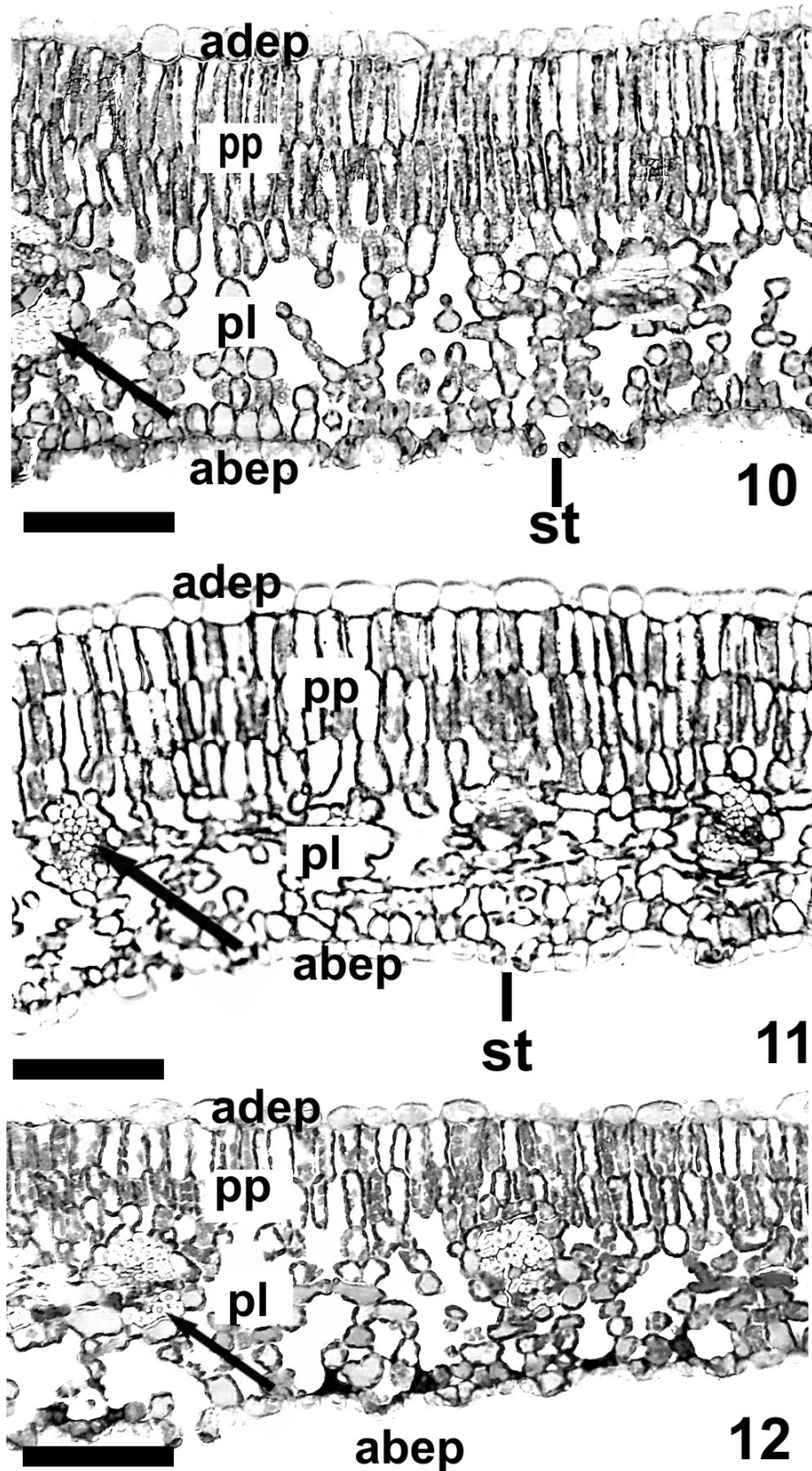
sombra, as células do parênquima lacunoso adjacentes voltadas para a face abaxial possuem maior quantidade de espaços intercelulares quando comparadas com as folhas dos demais tratamentos. Os feixes imersos no mesofilo são do tipo colateral e estão acompanhados por calotas de fibras nas duas faces (figuras 10-12).

A nervura central apresenta-se convexa tanto na face abaxial quanto adaxial, sendo mais proeminente nesta última (figura 13). Nesta região, em secção transversal, as células epidérmicas de ambas as faces apresentam formato arredondado ou triangular e são menores que as que revestem o mesofilo. As células epidérmicas da face abaxial são distintamente menores que as da face adaxial (figura 13). Internamente à epiderme, em ambas as faces, ocorrem de duas a três camadas de colênquima lacunar. Observa-se, no centro, dois feixes colaterais, um voltado para a face adaxial e outro para a abaxial. Há duas calotas de fibras próximas e externas a estes dois feixes (figura 13).

Foram identificados grãos de amido e compostos fenólicos nas células parenquimáticas da região da nervura central e no parênquima paliçádico do mesofilo da folha. Nas folhas das plantas do tratamento sol, aparentemente, há maior quantidade de compostos fenólicos quando comparadas às folhas das plantas dos tratamentos meia sombra e sombra, mas não foi observadas diferenças na quantidade de grãos de amido entre os tratamentos.



Figuras 5-9: Aspecto das folhas e das superfícies foliares de *Maytenus ilicifolia*. **5a.** Folha do tratamento sol. **5b.** Folha do tratamento meia sombra. **5c.** Folha do tratamento sombra. **6-7.** Fotomicrografias, em microscopia Fotônica. Vista frontal das faces adaxial e abaxial da epiderme da folha do tratamento sol. **6.** Face adaxial. **7.** Face abaxial. Estômato (seta). Cristal (asterisco) **8-9.** Eletromicrografias, em microscopia eletrônica de varredura. **8.** Superfície da face abaxial da folha. Estômato (seta). **9.** Detalhe de um estômato. Barra de escala= 3 cm em 5. = 50 μ m em 6. = 25 em 7. = 50 μ m em 8. = 10 μ m em 9.



Figuras 10-12. Seções transversais da lâmina foliar de *Maytenus ilicifolia*. **10.** Limbo da folha do tratamento sol. **11.** Limbo da folha do tratamento meia sombra. **12.** Limbo da folha do tratamento sombra. Estômato (st), Calota de fibras (seta). (adep), face adaxial da epiderme, (pp) parênquima paliádico, (pl) parênquima lacunoso, (abep) face abaxial da epiderme. Barra de escala= 100 μ m em todas as figuras.

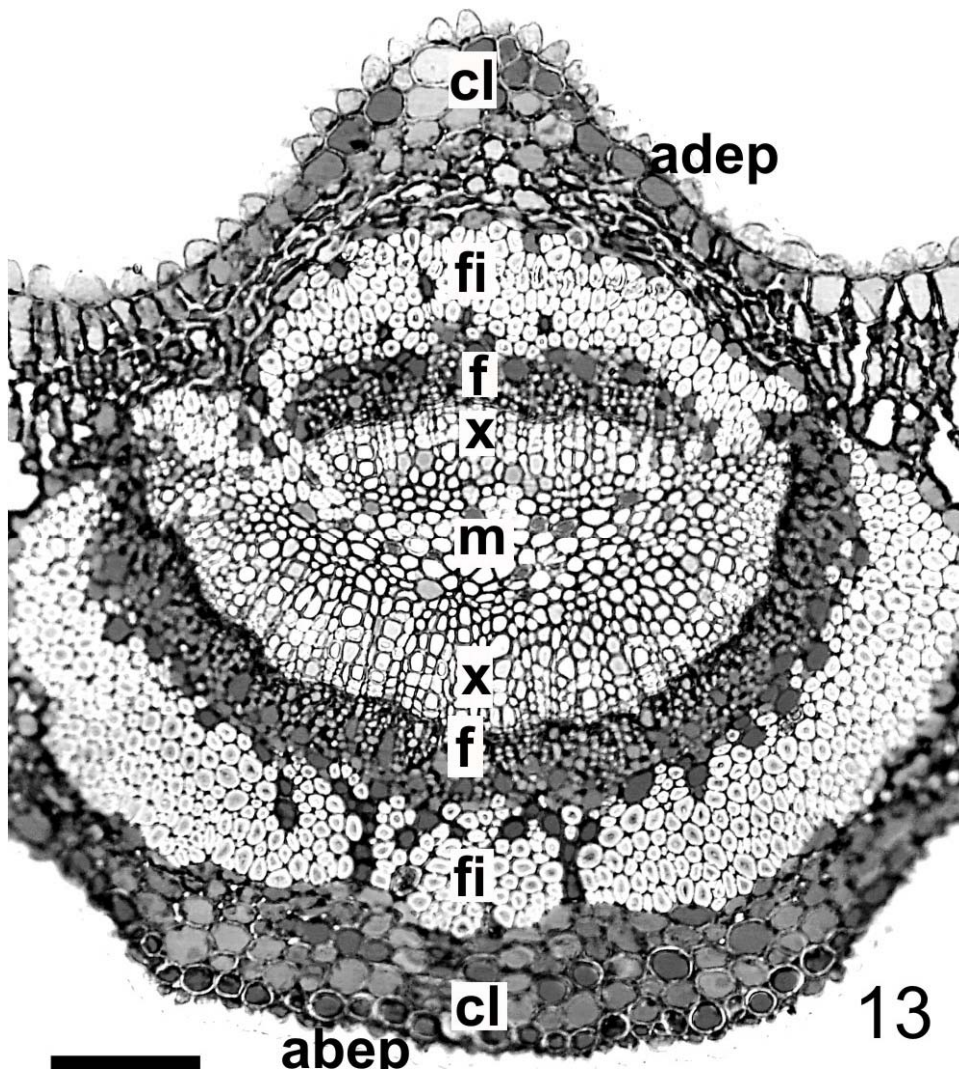


Figura 13. Secção transversal da região da nervura central da folha do tratamento sol. (adep), face adaxial da epiderme, (abep) face abaxial da epiderme, (cl) colênquima, (pa) parênquima fundamental, (fi) fibras, (m) medula, (x) xilema, (f) floema. Barra de escala= 100 μm .

3.2 Descrição morfológica e anatômica de *Vitex megapotamica*

Vitex megapotamica apresenta filotaxia oposta, folha composta digitada com lâmina do folíolo simétrica e elíptica com base cuneada, ápice convexo, margem inteira a serrada (figuras 14 a-c), textura coriácea e coloração verde bastante escuro. As nervuras são salientes na face abaxial. Não foram observadas diferenças morfológicas entre os tratamentos.

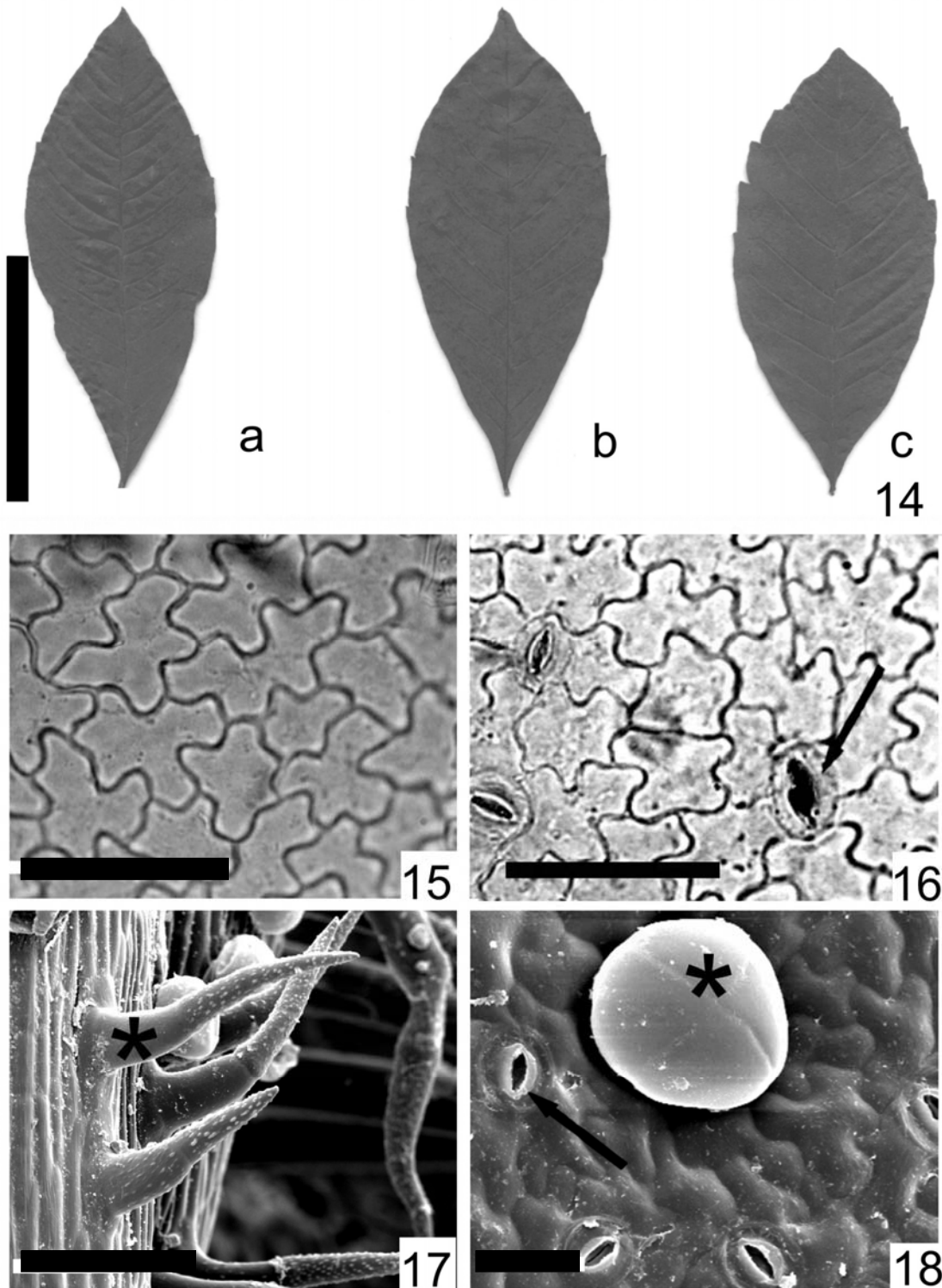
As células epidérmicas, de ambas as faces, apresentam as paredes anticlinais delgadas e com contorno sinuoso (figuras 15 e 16). Os estômatos são do tipo anomocítico e ocorrem apenas na face abaxial do folíolo (figura 16), caracterizando-o como hipoestomático. Na epiderme, ocorrem dois tipos de tricomas. Na região da nervura central ocorrem tricomas tectores multisseriados com superfície ornamentada (figura 17) e, por toda a face abaxial, ocorrem tricomas glandulares do tipo multicelular subsésil constituídos por quatro células na cabeça (figuras 17 e 18). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos para as células epidérmicas.

Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada e suas células são de formato retangular e, às vezes, quadrangular ou arredondado, sendo mais alongadas no sentido periclinal. As células da face adaxial são, aparentemente, maiores que as da face abaxial. As células-guarda dos estômatos apresentam-se mais salientes em relação às demais células epidérmicas (figuras 19-21).

O mesofilo é dorsiventral, formado por uma a duas camadas de parênquima paliçádico e por duas ou três camadas de parênquima lacunoso com células de formato irregular. No mesofilo dos folíolos dos tratamentos sol e meia sombra o parênquima paliçádico é constituído por duas a três camadas de células, sendo que as células paliçádicas mais próximas do parênquima lacunoso são mais curtas (figuras 19 e 20). No mesofilo dos folíolos do tratamento sombra, ocorre apenas uma camada do parênquima paliçádico, cujas células, em geral, apresentam formato de cone invertido (figura 21).

Os feixes vasculares imersos no mesofilo são do tipo colateral e apresentam extensões de bainha de fibras (figuras 19 e 20). A região da nervura central é bastante proeminente na face abaxial. Nesta região, as células

epidérmicas da face adaxial possuem formato quadrangular ou arredondado e são maiores que as células epidérmicas, de formato arredondado, da face abaxial. Internamente à epiderme, de ambas as faces, ocorre o colênquima angular. No centro da nervura central, há um feixe colateral na forma de ferradura que circunda três feixes menores do tipo colateral. O feixe maior é envolto por três a quatro camadas de fibras de parede espessada (figura 22). Nas células parenquimáticas da região da nervura central ocorrem grãos de amido em pequena quantidade. Na região da nervura central não foram observadas diferenças entre os tratamentos.



Figuras 14-18: Aspecto dos folíolos e das superfícies dos folíolos de *Vitex megapotamica*. **14a.** Folíolo do tratamento sol. **14b.** Folíolo do tratamento meia sombra. **14c.** Folíolo do tratamento sombra. **15-16.** Fotomicrografias, em microscopia Fotônica. Vista frontal das faces adaxial e abaxial da epiderme do folíolo do tratamento sol. **15.** Face adaxial. **16.** Face abaxial. Estômato (seta). **17-18.** Eletromicrografias, em microscopia eletrônica de varredura. **17.** Nervura central do folíolo, face abaxial com tricoma tector (asterisco). **18.** Superfície da face abaxial do folíolo. Tricoma glandular (asterisco), estômato (seta). Barra de escala= 3 cm em 14. = 25 μm em 15, 16 e 17. = 20 μm em 18.

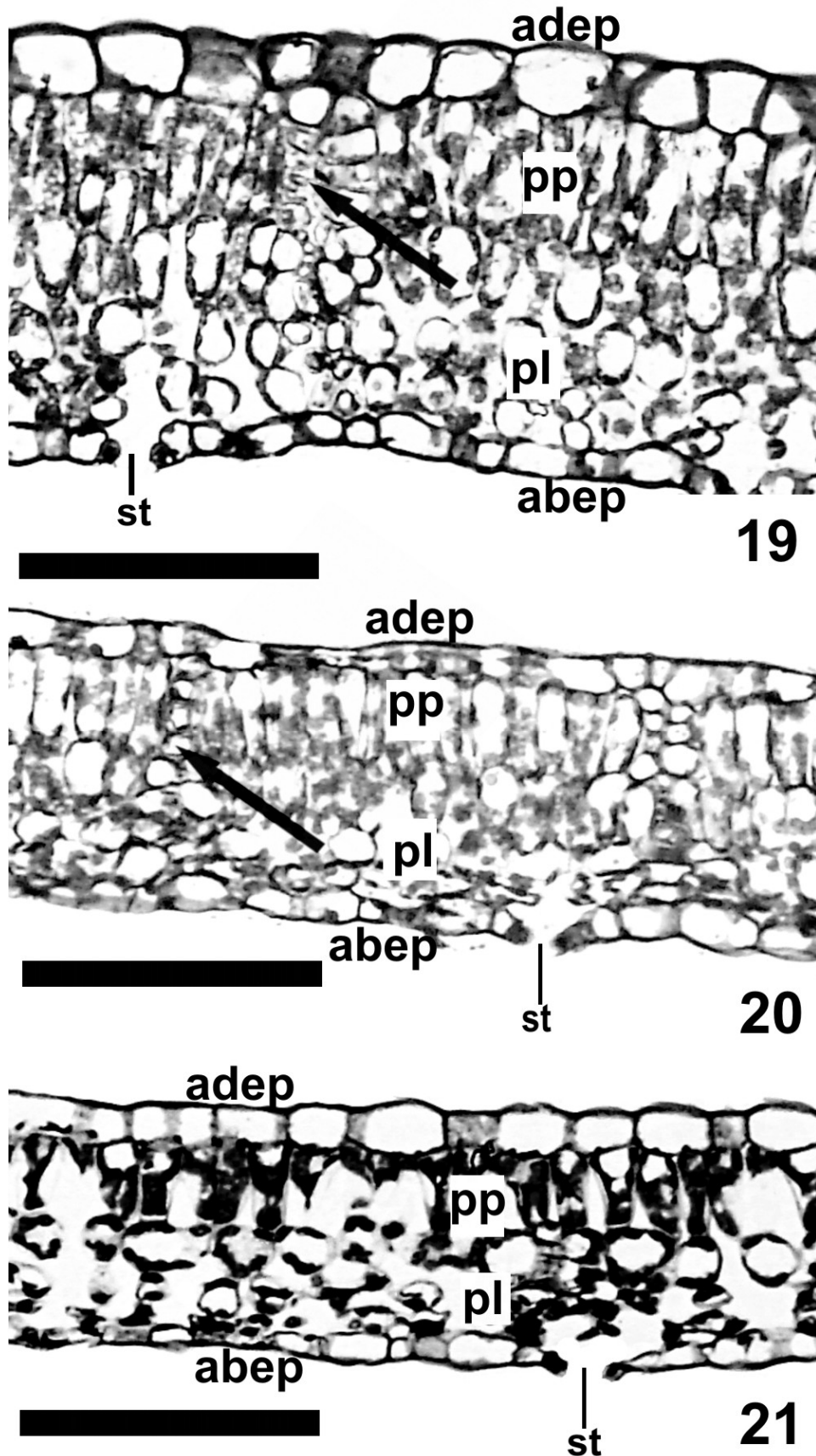


Figura 19-22: Secções transversais da lâmina dos folíolos de *Vitex megapotamica*. **19.** Folíolo do tratamento sol. **20.** Folíolo do tratamento meia sombra. **21.** Folíolo do tratamento sombra. Estômato (st), extensão de bainha de fibras (seta longa), feixe vascular menor (seta curta). (adep) face adaxial da epiderme, (pp) parênquima paliçádico, (pl) parênquima lacunoso, (abep) face abaxial da epiderme. Barra de escala= 100 µm em todas as figuras.

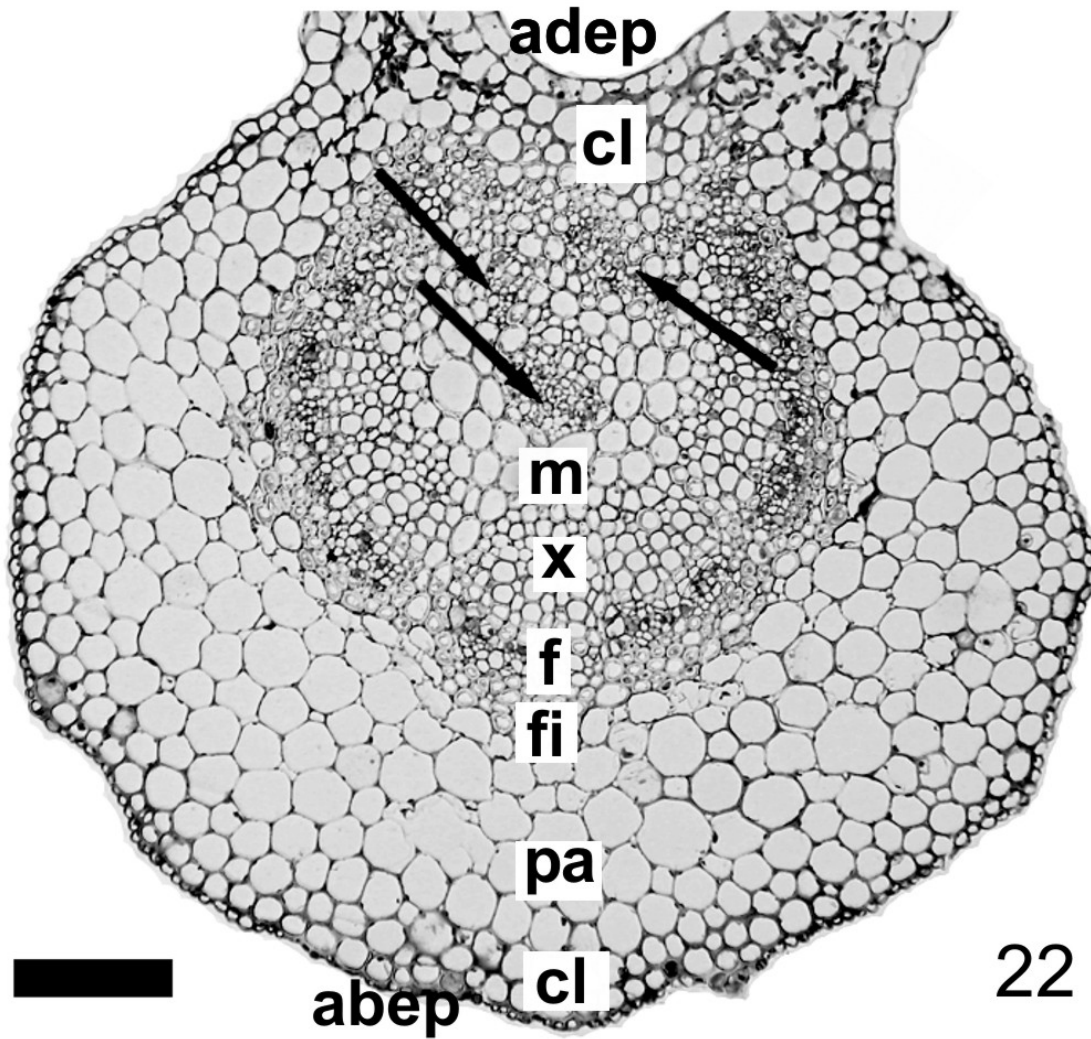


Figura 22. Secção transversal da região da nervura central do folíolo de *Vitex megapotamica* do tratamento sol. (adep), face adaxial da epiderme, (abep) face abaxial da epiderme, (cl) colênquima, (pa) parênquima fundamental, (fi) fibras, (m) medula, (x) xilema, (f) floema. Barra de escala= 100 μ m.

3.3 Variáveis quantitativas de *Maytenus ilicifolia*

Não houve diferença significativa entre os três tratamentos (sol, meia sombra e sombra) para: área foliar, massas fresca e seca, conteúdo de água (tabela 1), espessuras dos parênquimas paliçádico (total e 1ª camada) e lacunoso (tabela 3).

Os valores médios da área específica foliar, densidade estomática (tabela 1), espessuras da cutícula da face adaxial da epiderme, da face abaxial da epiderme, da cutícula da face abaxial da epiderme e espessura total da lâmina (tabela 3) apresentaram diferenças significativas nas folhas das plantas do tratamento sombra quando comparadas às folhas dos demais tratamentos.

A área específica foliar (AEF) média das folhas das plantas do tratamento sombra foi 18,47% e 16,4% maior que nas folhas das plantas do tratamento meia sombra e do tratamento sol, respectivamente (tabela 1).

As folhas das plantas do tratamento sol apresentaram 48,81% e 28,28% mais estômatos por unidade de área do que as folhas das plantas do tratamento sombra e meia sombra, respectivamente (tabela 1).

A cutícula da face adaxial da epiderme das folhas das plantas dos tratamentos sol e meia sombra foi 16,28% mais espessa do que as folhas das plantas do tratamento sombra. Para esta característica, as folhas dos tratamentos sol e meia sombra apresentaram espessura média semelhante (tabela 3).

A face adaxial da epiderme foi 14,22% mais espessa nas folhas das plantas do tratamento meia sombra do que nas folhas das plantas dos tratamentos sol e sombra. Comparando-se estes dois últimos tratamentos, os valores médios foram semelhantes.

Em relação aos tecidos clorofilianos, apenas a 2ª camada do parênquima paliçádico (tabela 3) foi estatisticamente significativa e 25,54% mais espessa nas folhas das plantas do tratamento sol do que nas folhas das plantas do tratamento sombra, enquanto que os valores médios das folhas das plantas do tratamento meia sombra não diferiram significativamente ao se comparar com os valores médios das folhas das plantas dos tratamentos sol e sombra (tabela 3).

O valor médio da espessura da face abaxial da epiderme das folhas das plantas do tratamento sol foi cerca de 41,1% mais espessa que as folhas das plantas dos tratamentos sombra e semelhante às folhas do tratamento meia sombra (tabela 3).

A espessura média da cutícula da face abaxial da epiderme das folhas das plantas dos tratamentos sol e meia sombra apresentou-se 18,61% mais espessa que nas folhas das plantas do tratamento sombra e as folhas dos tratamentos sol e meia-sombra apresentaram a mesma espessura média (tabela 3).

Em relação à espessura total da lâmina, as folhas das plantas do tratamento sol foram 20,32% mais espessas que as folhas das plantas do tratamento sombra e as folhas das plantas dos tratamentos sol e meia sombra apresentaram valores médios aproximados para esta variável (tabela 3).

As concentrações médias de clorofila *a*, *b* e total (tabela 2) apresentaram diferenças estatisticamente significativas ao se comparar os tratamentos sol e meia sombra. O valor médio de clorofila *a* nas folhas das plantas no tratamento sol foi maior (26,4%) quando comparado com as folhas do tratamento meia sombra. As concentrações de clorofila *b* e clorofila total (tabela 2) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos meia sombra e sombra. A concentração média de clorofila *b* nas folhas das plantas do tratamento sol apresentou valores médios 68,19% e 64,11% maiores que nas folhas de meia sombra e sombra, respectivamente (tabela 2). A concentração de clorofila total nas folhas das plantas do tratamento sol foi 52,21% e 40,35% maior que nas folhas de meia sombra e sombra, respectivamente (tabela 2).

A razão clorofila *a/b* (tabela 2) nas folhas das plantas do tratamento sombra apresentou maiores valores médios 20,4% e 13,69% do que nas folhas das plantas do tratamento sol e meia sombra, respectivamente. No entanto, as folhas das plantas do tratamento meia sombra não diferiram estatisticamente das folhas das plantas do tratamento sol e sombra.

TABELA 1. VALORES MÉDIOS, RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO (ENTRE PARÊNTESES) E COEFICIENTES DE VARIAÇÃO DA ÁREA FOLIAR, MASSA FRESCA, MASSA SECA, CONTEÚDO DE ÁGUA, ÁREA ESPECÍFICA FOLIAR (AEF) E DENSIDADE ESTOMÁTICA DAS FOLHAS DE *Maytenus ilicifolia* NOS DIFERENTES TRATAMENTOS DE LUZ (n=20). LETRAS DIFERENTES PARA A MESMA VARIÁVEL (MESMA LINHA) SIGNIFICAM QUE OS VALORES SÃO ESTATISTICAMENTE DIFERENTES ($p < 0,05$).

Características morfológicas	Sol pleno	CV (%)	Meia sombra	CV (%)	Sombra	CV (%)
Área foliar (cm ²)	7,10 (2,46) a	34,68	8,20 (3,45) a	42,17	9,04 (2,67) a	29,58
Massa fresca (g)	0,24 (0,08) a	35,42	0,28 (0,11) a	40,05	0,27 (0,08) a	32,42
Massa seca (g)	0,11 (0,03) a	34,26	0,13 (0,04) a	36,95	0,12 (0,04) a	34,04
Conteúdo de água (g)	0,13 (0,04) a	37,51	0,15 (0,06) a	43,99	0,14 (0,04) a	31,94
AEF (cm ² . g ⁻¹)	63,48 (12,13) b	19,11	61,91 (11,12) b	17,97	75,53 (5,38) a	7,08
Densidade estomática (n°. mm ⁻²)	336 (51,93) a	15,43	241 (39,98) a	16,59	172 (22,97) b	13,38

TABELA 2. VALORES MÉDIOS, RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO (ENTRE PARÊNTESES) E COEFICIENTES DE VARIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE CLOROFILA *a*, CLOROFILA *b*, CLOROFILA TOTAL E RELAÇÃO CLOROFILA *a/b* (n.mol.cm⁻²) NAS FOLHAS DE *Maytenus ilicifolia* NOS DIFERENTES TRATAMENTOS DE LUZ (n=6). LETRAS DIFERENTES PARA A MESMA VARIÁVEL (MESMA LINHA) SIGNIFICAM QUE OS VALORES SÃO ESTATISTICAMENTE DIFERENTES ($p < 0,05$).

	Sol pleno	CV (%)	Meia sombra	CV (%)	Sombra	CV (%)
Clorofila <i>a</i>	46,07(23,47) a	50,96	26,28 (7,11) b	27,05	33,91 (6,13) ab	18,07
Clorofila <i>b</i>	26,72 (37,22) a	139,27	8,5 (1,94) b	22,83	9,59 (2,29) b	23,92
Clorofila total	72,79 (60,62) a	83,27	34,79 (8,78) b	25,27	43,42 (8,33) b	19,20
Clorofila <i>a/b</i>	2,85 (1,02) b	35,94	3,09 (0,46) ab	15,04	3,58 (0,27) a	7,75

TABELA 3. VALORES MÉDIOS, RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO (ENTRE PARÊNTESES) E COEFICIENTES DE VARIAÇÃO DAS ESPESSURAS (μm) DA CUTÍCULA DA FACE ADAXIAL DA EPIDERME, DA FACE ADAXIAL DA EPIDERME, DO PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO, DAS 1ª E 2ª CAMADAS DO PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO, DO PARÊNQUIMA LACUNOSO, DA FACE ABAXIAL DA EPIDERME, DA CUTÍCULA DA FACE ABAXIAL DA EPIDERME E DA ESPESSURA TOTAL DA LÂMINA DAS FOLHAS DE *Maytenus ilicifolia* NOS DIFERENTES TRATAMENTOS DE LUZ (n=8). LETRAS DIFERENTES PARA A MESMA VARIÁVEL (MESMA LINHA) SIGNIFICAM QUE OS VALORES SÃO ESTATISTICAMENTE DIFERENTES ($p < 0,05$).

Caracteres anatômicos	Sol pleno	CV (%)	Meia sombra	CV (%)	Sombra	CV (%)
Cutícula da face adaxial da epiderme	8,6 (0) a	0	8,6 (0) a	0	7,2 (2,05) b	28,36
Face adaxial da epiderme	16,3 (1,72) b	10,57	19 (3,45) a	18,42	16,3 (1,72) b	10,57
Parênquima paliçádico	117 (23,56) a	20,09	109 (34,35) a	31,43	85 (20,86) a	24,50
1ª camada parênquima paliçádico	50 (9,32) a	18,51	52 (12,69) a	24,44	42 (12,06) a	28,88
2ª camada parênquima paliçádico	47 (7,64) a	16,4	42 (12,85) ab	30,76	35 (7,58) b	21,45
Parênquima lacunoso	148 (28,25) a	19,10	146 (21,56) a	14,74	125 (20,96) a	16,72
Face abaxial da epiderme	16,3 (1,72) a	10,57	16,1 (2,92) a	18,21	9,6 (2,47) b	25,66
Cutícula da face abaxial da epiderme	8,6 (0) a	0	8,6 (0) a	0	7,0 (2,14) b	30,76
Espessura total da lâmina	315 (37,61) a	11,94	307 (49,26) a	16,02	251 (24,93) b	9,94

3.4 Variáveis quantitativas de *Vitex megapotamica*

Não houve diferença significativa entre os três tratamentos para as seguintes variáveis: área foliar, massas fresca e seca, conteúdo de água (tabela 4), concentrações de clorofila *a*, a razão clorofila *a/b* (tabela 5), espessuras da cutícula da face adaxial da epiderme, do parênquima lacunoso, da face abaxial da epiderme e da cutícula da face abaxial da epiderme (tabela 6).

A área específica foliar, densidade estomática (tabela 4), espessura do parênquima paliçádico e espessura total da lâmina (tabela 6) apresentaram valores médios que diferiram estatisticamente nas folhas das plantas do tratamento sombra quando comparados aos valores médios das folhas das plantas dos tratamentos sol e meia sombra. Entre os tratamentos sol e meia sombra, não houve diferenças significativas para as variáveis anteriormente citadas. As concentrações médias de clorofila *b* e total também variaram significativamente entre os tratamentos sol em relação aos demais.

A densidade de tricomas (tabela 4) apresentou valores médios que diferiram estatisticamente no tratamento sol quando comparados aos valores médios obtidos nas folhas das plantas dos tratamentos meia sombra e sombra. No entanto, não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as folhas destes dois últimos tratamentos.

A área específica foliar (AEF) média das folhas das plantas do tratamento sombra foi 34,35% e 44,27% maior que nas folhas das plantas do tratamento meia sombra e sol, respectivamente (tabela 4).

O valor médio da densidade estomática nas folhas das plantas do tratamento sol apresentou 46,91% mais estômatos por unidade de área do que as folhas das plantas do tratamento sombra.

As folhas das plantas do tratamento sol apresentaram 45,53% e 30,6% mais tricomas por unidade de área do que as folhas das plantas do tratamento sombra e meia sombra, respectivamente (tabela 4).

A espessura da face adaxial da epiderme apresentou-se 34,36% e 25,77% mais espessa nas folhas das plantas do tratamento meia sombra quando comparado aos valores médios obtidos nas folhas das plantas dos tratamentos sol e sombra,

respectivamente. Entretanto, não houve diferenças significativas entre as folhas das plantas destes últimos tratamentos para esta característica (tabela 6).

A espessura do parênquima paliçádico foi 59,22% e 14,48% mais espessa nas folhas das plantas do tratamento sol que nas folhas das plantas dos tratamentos sombra e meia sombra, respectivamente (tabela 6).

Em relação à espessura total da lâmina, as folhas das plantas do tratamento sol foram 23,38% mais espessas que as folhas das plantas do tratamento sombra, enquanto que as folhas dos tratamentos sol e meia sombra apresentaram valor médio da espessura total da lâmina aproximados (tabela 6).

Os valores médios de clorofila *b* e total nas folhas das plantas no tratamento meia sombra e sombra foram maiores (33,54% e 25,06%, respectivamente) quando comparados com as folhas das plantas do tratamento sol. Porém, os valores médios para esta variável não foram significativamente diferentes entre os tratamentos meia sombra e sombra.

TABELA 4. VALORES MÉDIOS, RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO E COEFICIENTES DE VARIAÇÃO DA ÁREA FOLIAR, MASSA FRESCA, MASSA SECA, CONTEÚDO DE ÁGUA, ÁREA ESPECÍFICA FOLIAR (AEF), DENSIDADE ESTOMÁTICA E DENSIDADE DE TRICOMAS DOS FOLÍOLOS DE *Vitex megapotamica* NOS DIFERENTES TRATAMENTOS DE LUZ (n=10). LETRAS DIFERENTES PARA A MESMA VARIÁVEL (MESMA LINHA) SIGNIFICAM QUE OS VALORES SÃO ESTATISTICAMENTE DIFERENTES ($p < 0,05$).

Características morfológicas	Sol pleno	CV (%)	Meia sombra	CV (%)	Sombra	CV (%)
Área foliar (cm ²)	19,33 (10,81) a	55,96	20,81 (4,39) a	21,09	24,10 (10,50) a	43,59
Massa fresca (g)	0,52 (0,27) a	52,99	0,43 (0,10) a	24,74	0,42 (0,18) a	42,41
Massa seca (g)	0,20 (0,13) a	64,70	0,17 (0,04) a	27,29	0,12 (0,04) a	32,43
Conteúdo de água (g)	0,32 (0,17) a	54,54	0,26 (0,06) a	25,13	0,30 (0,14) a	47,17
AEF (cm ² . g ⁻¹)	103,46 (18,26) b	17,65	121,89 (21,34) b	17,51	185,64 (31,40) a	16,91
Densidade estomática (n°. mm ⁻²)	339 (34,63) a	10,22	314 (29,92) a	9,54	180 (39,29) b	21,88
Densidade de tricomas (n°. mm ⁻²)	134 (27,21) a	20,92	93 (27,21) b	29,20	73 (9,58) b	13,17

TABELA 5. VALORES MÉDIOS, RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO E COEFICIENTES DE VARIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE CLOROFILA *a*, CLOROFILA *b*, CLOROFILA TOTAL E RELAÇÃO CLOROFILA *a/b* (n.mol.cm⁻²) NOS FOLÍOLOS DE *Vitex megapotamica* NOS DIFERENTES TRATAMENTOS DE LUZ (n=6). LETRAS DIFERENTES PARA A MESMA VARIÁVEL (MESMA LINHA) SIGNIFICAM QUE OS VALORES SÃO ESTATISTICAMENTE DIFERENTES ($p < 0,05$).

	Sol pleno	CV (%)	Meia sombra	CV (%)	Sombra	CV (%)
Clorofila <i>a</i>	21,36 (5,93) a	27,78	26,80 (2,21) a	8,24	27,31 (4,12) a	15,08
Clorofila <i>b</i>	10,07 (2,20) b	21,91	15,15 (1,28) a	8,5	13,67 (1,88) a	13,76
Clorofila total	31,44 (8,02) b	25,52	41,95 (2,91) a	6,95	40,98 (7,72) a	11,52
Clorofila <i>a/b</i>	2,09 (0,24) a	11,65	1,77 (0,17) a	10	2,02 (0,41) a	20,7

TABELA 6. VALORES MÉDIOS, RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO E COEFICIENTES DE VARIAÇÃO DAS ESPESSURAS (μm) DA CUTÍCULA DA FACE ADAXIAL DA EPIDERMIS, DA FACE ADAXIAL DA EPIDERMIS, DO PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO, DO PARÊNQUIMA LACUNOSO, DA FACE ABAXIAL DA EPIDERMIS, DA CUTÍCULA DA FACE ABAXIAL DA EPIDERMIS E DA ESPESSURA TOTAL DA LÂMINA DOS FOLÍOLOS DE *Vitex megapotamica* NOS DIFERENTES TRATAMENTOS DE LUZ (n=8). LETRAS DIFERENTES PARA A MESMA VARIÁVEL (MESMA LINHA) SIGNIFICAM QUE OS VALORES SÃO ESTATISTICAMENTE DIFERENTES ($p < 0,05$).

Caracteres anatômicos	Sol pleno	CV (%)	Meia sombra	CV (%)	Sombra	CV (%)
Cutícula da face adaxial da epiderme	4,8 (1,46) a	30,36	4,8 (1,46) a	30,36	4,6 (1,07) a	23,52
Face adaxial da epiderme	10,7 (3,12) b	29,21	16,3 (2,8) a	17,18	12,1(3,21) b	26,66
Parênquima paliçádico	76 (7,14) a	9,46	65 (14,29) a	21,87	31 (6,23) b	20,41
Parênquima lacunoso	48 (12,06) a	25,03	47 (6,99) a	14,84	55 (7,58) a	13,88
Face abaxial da epiderme	9,4 (1,72) a	18,42	11,5 (3,39) a	29,51	10,4 (2,19) a	21,01
Cutícula da face abaxial da epiderme	4,6 (1,07) a	23,52	4,3 (0) a	0	4,3 (0) a	0
Espessura total da lâmina	154 (14,49) a	9,43	149 (11,26) a	7,54	118 (15,8) b	13,41

3. 5 Análise do solo

O solo do local de estudo classifica-se como cambissolo aplico distrófico, apresentando alta relação silte-argila, motivo pelo qual pode-se considerar este solo em processo de formação e liberação de nutrientes a partir da intemperização do silte. É considerado distrófico em relação a critérios agronômicos de produção, geralmente para espécies exóticas, sendo entretanto bem qualificado para as espécies nativas da região. A análise de fertilidade (tabela 7), realizada em relação ao horizonte A (0-20cm), evidenciou pH muito baixo, assim como os níveis de íons cálcio e magnésio. A quantificação obtida para o íon potássio é suficiente, contudo as taxas de fósforo podem ser limitantes. A concentração de nitrogênio foi calculada a partir da quantificação de matéria orgânica no solo, estando satisfatória.

TABELA 7. CARACTERÍSTICAS PRINCIPAIS DOS TRATAMENTOS TESTADOS EM RELAÇÃO À VEGETAÇÃO E FERTILIDADE DO SOLO. OS VALORES DE PH, MICRO-NUTRIENTES E FRAÇÃO DE ARGILA APRESENTADOS PARA CADA TRATAMENTO REPRESENTAM A MÉDIA DOS VALORES OBTIDOS EM TRÊS PARCELAS.

	Sol	Meia sombra	Sombra
Tipo de vegetação predominante	Vegetação rasteira e herbácea	Arbóreas nativas, pouco densas	Arbóreas nativas densamente dispostas
pH do solo (CaCl ₂)	3,66	3,66	3,50
Ca ⁺³ (cmol _c .dm ⁻³)	0,53	0,50	0,34
Mg ⁺² (cmol _c .dm ⁻³)	0,39	0,31	0,19
K ⁺ (cmol _c .dm ⁻³)	0,24	0,10	0,10
P (mg.dm ⁻³)	3,23	3,00	2,53
N (g.dm ⁻³)	17,47	19,98	17,95
M (sat Al+3) %	78,7	82,00	87,00
T (cmol _c .dm ⁻³)	15,28	16,18	16,20
Fração de Argila	475	433	541

4 DISCUSSÃO

4.1 Análise qualitativa

4.1.1 *Maytenus ilicifolia*

A constatação para *Maytenus ilicifolia* de um limbo glabro, com textura coriácea e nervura central bem saliente voltada para face abaxial foi, anteriormente, verificada em outros estudos (BERNARDI; WASICKY, 1959; OKANO, 2000; MAGALHÃES, 2002; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2003; DUARTE; DEBUR, 2005). Tricomas são pouco freqüentes em espécies da família Celastraceae (METCALFE; CHALK, 1950). JOFFILY e VIEIRA (2005) ao trabalharem com cinco espécies do gênero *Maytenus* observaram folhas glabras para *M. ardisiaefolia* Reiss., *M. brasiliensis* Mart., *M. cestrifolia* Reiss., *M. communis* Reiss. e *M. obtusifolia* Mart.

Maytenus ilicifolia apresenta cutícula estriada em ambas as faces da folha e tal observação foi também constatada por outros autores que estudaram a espécie (ALQUINI; TAKEMORI, 2000; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2003). Vários estudos com folhas de *Maytenus ilicifolia* consideraram a presença de flanges cuticulares (ALQUINI; TAKEMORI, 2000; DUARTE; DEBUR, 2005) e cutícula espessa (BERNARDI; WASICKY, 1959; ALQUINI; TAKEMORI, 2000; JACOMASSI; MACHADO, 2003; DUARTE; DEBUR, 2005), o que está de acordo com o observado no presente estudo.

O contorno reto e o forte espessamento da parede anticlinal das células epidérmicas, de ambas as faces das folhas, foi descrito para *M. ilicifolia*. Padrão semelhante foi reportado para *M. aquifolia* Mart. (JACOMASSI; MACHADO, 2003) e para as folhas de *Pogonophora shomburgkiana* Miers (LEITE; LLERAS, 1978) e de *Hevea brasiliensis* Müell. Arg. (MEDRI; LLERAS, 1980) que se desenvolveram em locais com alta intensidade luminosa. Neste estudo, não foram observadas diferenças nos contornos das células das folhas dos diferentes tratamentos, ao

contrário do esperado, onde folhas sob pouca exposição solar geralmente apresentam contornos mais sinuosos (MEDRI; LLERAS, 1980).

METCALFE e CHALK (1950) consideraram que uma hipoderme pode estar presente na face adaxial, ou em ambas as faces do mesofilo das folhas de espécies dos gêneros *Cassine*, *Celastrus*, *Denhamia*, *Elaeodendron*, *Euonymus*, *Maytenus*, entre outros, porém esta camada não foi observada no material estudado.

METCALFE e CHALK (1950) ressaltaram que várias espécies de diferentes gêneros da família Celastraceae, dentre eles o gênero *Maytenus*, comumente apresentam cristais em suas células epidérmicas e este fato foi confirmado neste estudo. No entanto, outros autores verificaram a presença de cristais de oxalato de cálcio não somente nas células epidérmicas, como também, nas células do parênquima paliçádico (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2003) e na região da nervura central (BERNARDI; WASICKY, 1959).

Os cristais podem ser encontrados sob diversas formas nos vegetais e parecem estar sob controle genético (WEBB, 1999). São considerados produtos de excreção da planta (ESAU, 1977) e nos vegetais superiores, desenvolvem-se no vacúolo de células especializadas (WEBB; CAVALETTO, 1994). No presente estudo, foi verificada a presença de cristais predominantemente nas células epidérmicas de ambas as faces da lâmina foliar.

De acordo com METCALFE e CHALK (1981), as funções dos cristais estão relacionadas com a proteção do vegetal contra o ataque de insetos, suporte mecânico aos tecidos e ação de neutralizar quantidades excessivas de ácido oxálico, que podem ser nocivas à planta e apresentam toxicidade aos animais. Em *M. ilicifolia* parece que os cristais, pela sua localização nas células epidérmicas, podem desempenhar função de proteção contra herbivoria.

O tipo de estômato anomocítico foi o único observado neste estudo e também por vários autores que estudaram *Maytenus ilicifolia* (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2003; JACOMASSI; MACHADO, 2003; DUARTE; DEBUR; 2005). Contudo, já foi citado anteriormente os tipos anisocítico (METCALFE; CHALK, 1950; BERNARDI, WASICKY, 1959) e paracítico (ALQUINI; TAKEMORI, 2000) para esta espécie.

Os estômatos verificados neste trabalho estão limitados à superfície abaxial, o que permitiu caracterizar as folhas de *Maytenus ilicifolia* como hipoestomáticas em todos os tratamentos de luz. Observações semelhantes foram constatadas em

outros estudos realizados com a espécie (ALQUINI; TAKEMORI, 2000; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2003; JACOMASSI; MACHADO, 2003; DUARTE; DEBUR; 2005). Porém, METCALFE e CHALK (1950) citam para algumas espécies dos gêneros *Gymnosporia*, *Maytenus* e *Mortonia*, folhas anfiestomáticas.

As observações verificadas para o formato da nervura central, como a forte proeminência voltada para a face adaxial, formato convexo mais tênue na face abaxial e feixe vascular da nervura central envolto por fibras, ocorrentes nas folhas dos três tratamentos analisados, também foram verificadas por ALQUINI e TAKEMORI (2000) e JACOMASSI e MACHADO (2003).

A presença de calotas de fibras associadas aos feixes vasculares de menor porte, em *M. ilicifolia*, é comumente verificada em xerófitas (FAHN; CUTTER, 1992), que se localizam em locais áridos e por isso estão constantemente sujeitas à perda de água por excesso de transpiração. Estes reforços mecânicos, representados pelas calotas de fibras, conferem sustentabilidade à folha e reduzem os efeitos danosos produzidos pelo murchamento, como o colapso das células (STRAUSS-DEBENEDETTI; BERLYN, 1994). Contudo, visualmente, não foi observado diferenças na organização das fibras nas folhas do tratamento sol ao se comparar com os demais tratamentos.

A organização dorsiventral dos tecidos componentes do mesofilo de *Maytenus ilicifolia* verificada está de acordo com vários autores (BERNARDI; WASICKY, 1959; ALQUINI; TAKEMORI, 2000; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2003; JACOMASSI; MACHADO, 2003; DUARTE; DEBUR, 2005), exceto para METCALFE e CHALK (1950) que citam a ocorrência de mesofilo isobilateral para certas espécies dos gêneros *Maytenus*, *Gymnosporia* e *Mortonia*.

A ocorrência de compostos fenólicos no floema da região da nervura central nas folhas de *M. ilicifolia* observada neste estudo, corrobora o encontrado em outras investigações (VILEGAS et al., 1994; JACOMASSI; MACHADO, 2003; DUARTE; DEBUR, 2005). Estes compostos fazem parte do metabolismo secundário das plantas e estão intimamente relacionados à proteção da planta contra herbívoros e patógenos, possuem função no suporte mecânico por atuarem diretamente na formação de lignina, agem na proteção contra a radiação ultravioleta e possuem potencial alelopático, reduzindo o crescimento de plantas competidoras adjacentes (TAIZ; ZEIGER, 2004). Apesar do fato das folhas de sombra apresentarem maiores

indícios de herbivoria, aparentemente, não se verificou diferença na quantidade destes metabólitos nas folhas do tratamento sombra com os demais tratamentos.

4.1.2 *Vitex megapotamica*

Os folíolos de *Vitex megapotamica* apresentaram margem inteira à serrada. Contudo, REITZ, KLEIN e REIS (1983) verificaram apenas margem lisa nos folíolos.

Em *V. megapotamica*, nos três tratamentos analisados, foi verificado contorno sinuoso da parede anticlinal das células epidérmicas de ambas as faces do folíolo. Porém, este padrão é, geralmente, verificado em folhas desenvolvidas em ambientes mais úmidos e sombreados (SANTIAGO et al., 2001). Como nestes ambientes a expansão foliar tende a ser maior para auxiliar na captura de luz, o contorno sinuoso da parede anticlinal parece permitir maior flexibilidade e extensão das células epidérmicas. MEDRI e LLERAS (1980) sugerem que uma epiderme constituída por células sinuosas poderia estar mais adaptada para resistir a tensões superficiais causadas pela maior flexibilidade.

O tipo de estômato anomocítico, observado nos folíolos para *V. megapotamica* nos três tratamentos de luz, foi também verificado para *Baillonia*, *Clerodendron*, *Coelocarpum*, *Duranta*, *Priva*, dentre outros gêneros da família Verbenaceae (METCALFE; CHALK, 1950). CANTINO (1990) constatou que os tipos anomocítico e diacítico são os mais freqüentemente encontrados para esta família.

A maioria das espécies da família Verbenaceae, incluindo todos os membros investigados em Symphorematoideae, Callicarpeae, Petreeae e Viticeae apresentam folhas hipoestomáticas. METCALFE e CHALK (1950) e CANTINO (1990) consideraram que folhas hipoestomáticas são encontradas em espécies dos gêneros *Vitex*, *Tatea*, *Lippia*, *Petrea*, *Duranta*, *Monochilus*, *Phryma* entre outros.

A presença de tricoma glandular subsséssil, localizado geralmente na face abaxial da epiderme dos folíolos, verificada neste estudo, tem sido largamente reportada para espécies desta família e o tipo constituído por quatro células na região apical é o que ocorre em maior porcentagem dos gêneros da família Verbenaceae (CANTINO, 1990). Por outro lado, METCALFE e CHALK (1950) não

registraram presença de tricomas glandulares para o gênero *Vitex*. A presença de tricomas glandulares em maior número nos folíolos do tratamento sol indica que estes podem auxiliar na defesa contra a herbivoria, que parece ser menos intensa nos folíolos deste tratamento.

Tricomas tectores multisseriados foram observados na região da nervura central, concordando com METCALFE e CHALK (1950) que verificaram a presença de tricomas tectores do tipo unisseriado amplamente distribuídos nas folhas de espécies do gênero *Vitex*.

O mesofilo apresentou organização dorsiventral nos folíolos estudados em todos os três tratamentos, mas além deste tipo, METCALFE e CHALK (1950) citaram ocorrência de mesofilo isobilateral em *Lampaya* e mesofilo homogêneo constituído inteiramente por tecido paliçádico compacto em algumas espécies de *Vitex*.

Vitex megapotamica também apresenta caráter xeromórfico devido ao grande desenvolvimento de esclerênquima, associado à formação de uma calota de fibras delimitando externamente o feixe vascular da nervura central e à extensão de fibras a partir dos feixes vasculares imersos no mesofilo dos folíolos nos três tratamentos de luz. METCALFE e CHALK (1950) constataram os feixes vasculares centrais acompanhados por esclerênquima em espécies dos gêneros *Baillonia*, *Casselia*, *Lippia*, *Petrea*, *Verbena* e extensão de fibras no mesofilo de algumas espécies dos gêneros *Citharexylum* e *Petrea*. MULLAN * citado por METCALFE e CHALK (1950) descreveu feixes vasculares transcorridos por tecidos de estocagem de água localizados no mesofilo de algumas espécies de *Vitex*.

MULLAN, D. P. Observations on the water-storing devices in the leaves of some Indian halophytes. **Journal of the Indian Botanical Society**, Madras, v. 10, p. 126-13. 1931.

4.2 Análise quantitativa

As duas espécies em estudo apresentaram comportamento similar, em função das características analisadas, com exceção dos valores médios da espessura da face abaxial da epiderme e concentração de clorofila *a* e total de *Maytenus ilicifolia* e dos valores médios da espessura da face adaxial e densidade de tricomas de *Vitex megapotamica*.

A análise morfológica foliar para as duas espécies em estudo mostrou uma variação estatisticamente significativa na estrutura da folha para as seguintes características: AEF, densidade estomática, espessura total da lâmina, espessura do parênquima paliçádico, espessura da face adaxial da epiderme e concentração de clorofila *b*. No entanto, não foram observadas variações quanto à área foliar, massa seca e conteúdo de água.

Nas folhas que se desenvolvem em ambientes com diferentes intensidades luminosas, espera-se que ocorram valores diferenciados para área foliar, massa seca e conteúdo de água, de acordo com as condições e disponibilidade de recursos locais (MARQUES; GARCIA; FERNANDES, 1999; KLICH, 2000; GONÇALVES et al., 2005), uma vez que o ambiente exerce grande influência na expressão fenotípica das plantas (MONTANARI et al., 2004).

Apesar dos dados não evidenciarem diferenças significativas para a área foliar, entre os tratamentos, observou-se uma tendência no aumento dos valores médios de área foliar das folhas do tratamento sombra quando comparados com as folhas dos demais tratamentos (meia sombra e sombra), principalmente para *V. megapotamica*. Provavelmente, os valores não diferiram estatisticamente em função da grande variabilidade na amostra de folhas para esta característica, como pode ser observado pelo coeficiente de variação (21,8 a 55,9%).

A variação na área foliar ocorre em função da maior ou menor expansão da superfície foliar, que por sua vez, relaciona-se com o aumento ou diminuição da camada limítrofe de ar da folha. Desta forma, uma folha que apresenta área foliar ampla possui maior resistência à perda de calor, causada pela maior espessura de camadas de ar junto à superfície foliar por meio da qual o vapor tem que se difundir (THOMPSON; KRIEDEMANN; CRAIG, 1992). A redução das dimensões das superfícies foliares reduz a camada limítrofe de ar da folha e diminui a resistência para perder calor. Assim, folhas desenvolvidas sob altas intensidade luminosas

tendem a ser menores para proporcionar aumento na convecção de calor dissipado, um importante fator para sobrevivência da planta, que além de evitar o super aquecimento dentro da folha, impede a desidratação pela transpiração excessiva (SMITH et al., 1997) e a foto-destruição da clorofila (ASHTON; BERLYN, 1992).

A presença de tricomas também contribui para magnitude da resistência da camada limítrofe, além de estar relacionada à várias outras funções protetoras da planta, entre elas, a capacidade de refletir os raios ultravioletas, que em excesso podem danificar o aparelho fotossintética da folha (SMITH et al. 1997; DICKISON, 2000).

A massa seca apresentou tendência inversa da área foliar apenas em *V. megapotamica*, enquanto que para *M. ilicifolia* não houve variações dos valores médios, entre os tratamentos. A maior massa seca média em *V. megapotamica* em folhas do tratamento sol pode estar relacionada com a maior espessura foliar (que é cerca de 50% maior do que as folhas do tratamento sombra), além da ocorrência da extensão de bainha esclerenquimática nesta espécie.

Os valores médios diferenciados da AEF do tratamento sombra para as duas espécies, em comparação com os demais tratamentos, parecem ser resultado da maior variação da área foliar do que do massa seca. Os maiores valores de AEF geralmente ocorrem em folhas de sombra devido à maior expansão foliar (DIAS-FILHO, 2000; MENDES; GAZARINI; RODRIGUES, 2001; GONZÁLEZ; GIANOLI, 2004; GONÇALVES et al., 2005), para maximizar a captura de luz em ambientes em que esta encontra-se difusa.

A maior densidade estomática por unidade de área foi encontrada nas folhas do tratamento sol para ambas as espécies. Estas folhas estão sujeitas a maiores temperaturas e menor umidade relativa do ar e a maior densidade de estômatos por unidade de área pode ser entendida como uma das estratégias para se diminuir o tempo de abertura dos estômatos, captar CO₂ mais rapidamente e minimizar as chances de perda de água por transpiração. Este mecanismo contribui para o aumento na eficiência da fotossíntese e evita a transpiração foliar excessiva (ASHTON; BERLYN, 1992; MARQUES; GARCIA; FERNANDES, 1999; KAKANI et al., 2003). Em contrapartida, as menores densidades estomáticas ocorreram no tratamento sombra.

Nos ambientes menos ensolarados é economicamente vantajosa a construção de uma folha com maior área para maximizar a captura de maior quantidade possível de luz e o investimento nos estômatos para capturar CO₂ mais eficientemente. A máxima eficiência fotossintética neste local pode ser obtida através da formação de um menor número de estômatos por unidade de área foliar (SANTIAGO et al., 2001; KAKANI et al., 2003) que podem permanecer por mais tempo com seus ostíolos abertos (MARQUES; GARCIA; FERNANDES, 1999), sem o risco de perderem água pela transpiração.

Assim como o valor médio da densidade de estômatos, o valor médio da densidade de tricomas glandulares para *V. megapotamica* foi maior nos folíolos do tratamento sol. A presença de tricomas glandulares está intimamente associada à produção de metabólitos secundários que defendem os vegetais contra herbívoros e patógenos (TAIZ; ZEIGER, 2004). O maior número de tricomas glandulares por unidade de área nas folhas de *V. megapotamica* no tratamento sol pode estar relacionado às temperaturas mais elevadas (DE BONA et al., 2003) a que estas folhas estão sujeitas, fato que talvez acelere o metabolismo e, conseqüentemente, a produção de maior quantidade de metabólitos secundários.

Para as duas espécies estudadas, os valores médios da espessura foliar foi inversamente proporcional aos valores médios da área foliar. A diferença nos valores médios da espessura total da lâmina nos tratamentos sol e meia sombra em relação ao tratamento sombra ocorreram devido ao maior espessamento do parênquima paliçádico.

Os maiores valores na espessura da lâmina foliar podem estar associados às mudanças estruturais que comumente ocorrem nas folhas para diminuir a perda de água e aumentar a taxa fotossintética por unidade de área foliar (ASHTON; BERLYN, 1994; KLICH, 2000). As xerófitas, além de apresentarem folhas mais espessas, apresentam também esclerênquima mais desenvolvido o que confere sustentação à folha e previne contra o murchamento (STRAUSS-DEBENEDETTI; BERLYN, 1994). Além disso a planta desenvolve estratégias para maximizar a captura e difusão de CO₂ em seu interior, bem como para ajustar sua orientação para reduzir a luz solar incidente (SMITH et al., 1997; SMITH; BELL; SHEPHERD, 1998).

As diferenças na espessura da cutícula da face adaxial, em *M. ilicifolia*, provavelmente ocorreram em função do baixo coeficiente de variação entre os valores. Quando compara-se os valores médios de cada tratamento, observa-se que a diferença é em torno de 16% (para a cutícula da face adaxial em *M. ilicifolia*) o que representa um valor absoluto de 1,4 μm , que em termos estruturais, representa uma diferença insignificante, considerando o complexo cutícula + epiderme (valores absolutos de 23,5 a 27,6 μm).

Para a face adaxial da epiderme, os maiores valores médios obtidos no tratamento meia sombra, em ambas as espécies, não eram os esperados, uma vez que epidermes mais espessas são encontradas, geralmente, em folhas sob luz solar intensa, como uma estratégia para aumentar a reflexão dos raios luminosos (VOGELMANN; NISHIO; SMITH, 1996; SMITH et al., 1997; MARQUES et al., 2000). A formação de uma epiderme adaxial mais espessa, ou multisseriada, parece estar relacionada à proteção do parênquima paliçádico contra o excesso de radiação UV-B (CHAZDON; KAUFMANN, 1993) e à prevenção contra o murchamento das folhas quando expostas à altas intensidades luminosas (STRAUSS-DEBENEDETTI; BERLYN, 1994).

Alguns autores defendem a idéia de que o aumento na espessura das células epidérmicas pode estar relacionado, por outro lado, ao maior sombreamento (ASHTON; BERLYN, 1992; KLICH, 2000; MORAIS et al., 2004; SANTIAGO et al., 2001; YANO; TERASHIMA, 2004). Tal fato pode ser explicado pela presença e atuação de reguladores de crescimento, como as auxinas, na distensão das células epidérmicas através de sua migração para a região menos iluminada da folha. Em folhas de sombra esta migração ocorre na direção horizontal, ao longo das células epidérmicas; em folhas de sol a migração das auxinas é para o interior do mesofilo, o que contribui com a distensão e alongamento das células do parênquima paliçádico (MORAIS et al., 2004).

Os maiores valores médios das espessuras dos tecidos que compõem o mesofilo das espécies estudadas foram verificados nos tratamentos mais ensolarados e refletiram no maior valor médio da espessura total da lâmina foliar dos tratamentos sol e meia sombra. Estes resultados também foram constatados em outros estudos (STRAUSS-DEBENEDETTI; BERLYN, 1994; MARQUES; GARCIA;

FERNANDES, 1999; MARQUES et al., 2000; MENDES; GAZARINI; RODRIGUES, 2001).

O aumento da espessura da lâmina é resultante do maior número de camadas do parênquima paliçádico ou do maior comprimento das células, ou a combinação destes. Em *M. ilicifolia*, o parênquima paliçádico é formado por mais de uma camada com diferentes espessuras na mesma condição de luz e entre os tratamentos. Para *V. megapotamica*, o número de camadas varia e no tratamento sombra ocorre apenas uma única camada e de menor espessura que nos outros tratamentos. Tais padrões podem ser resultado de divisões celulares periclinais, que ocorrem como consequência do reconhecimento de um sinal de luz que controla a direção da divisão celular (YANO; TERASHIMA, 2004).

As maiores espessuras do parênquima paliçádico em condição de sol parecem ser fortemente relacionadas com a organização deste tecido. O formato colunar típico das células do parênquima paliçádico, facilita a penetração da luz canalizada para o interior do mesofilo. O ajuste da espessura, geometria e disposição das células do parênquima paliçádico (SMITH; BELL; SHEPHERD, 1998) conferem uma estrutura foliar que proporciona eficiência na distribuição da luz no interior da folha e máxima absorção e fixação de carbono de acordo com as condições de luz no ambiente (VOGELMANN; NISHIO; SMITH, 1996).

Plantas de ambientes mais ensolarados tendem a apresentar maiores taxas fotossintéticas e de transpiração, devido às altas taxas de radiação fotossinteticamente ativa e de temperatura a que estão sujeitas (ASHTON; BERLYN, 1992) ou, devido ao consequente acúmulo de nitrogênio e clorofila por unidade de área foliar. A alta concentração de nitrogênio foliar auxilia a conversão da energia luminosa em matéria orgânica como enzimas de carboxilação e proteínas. Já nas folhas desenvolvidas sob baixas irradiâncias, a baixa concentração de nitrogênio é compensada pela construção de uma maior área foliar mais ampla, que auxilie na captura de luz (MENDES; GAZARINI; RODRIGUES, 2001).

Os valores médios da espessura do parênquima lacunoso não variaram entre os tratamentos para as duas espécies, apesar das folhas de *V. megapotamica* no tratamento sombra apresentarem maior valor médio para esta característica. A espessura para este tecido na folhas de *M. ilicifolia* foi maior nas folhas dos tratamentos sol pleno e meia sombra. Os resultados obtidos para *V. megapotamica*

são os esperados e encontrados na maioria de estudos semelhantes (STRAUSS-DEBENEDETTI; BERLYN, 1994; PROIETTI et al., 2000; RÔÇAS; SCARANO, 2001).

Para as concentrações de clorofila, as duas espécies apresentaram padrões diferenciados que podem ser explicados, pelo menos em parte, pela organização do parênquima paliçádico, uma vez que a espessura e a organização dos tecidos componentes da lâmina são elementos importantes na concentração de clorofila (HANBA; KOGAMI; TERASHIMA, 2002). Adicionalmente, a concentração de clorofila foi calculada por unidade de área, sendo influenciada pela espessura dos tecidos clorofilianos. Isto é evidente em *M. ilicifolia*, que apresenta variação nas espessuras das camadas do parênquima paliçádico, entre os tratamentos, sendo que a maior concentração de clorofila por unidade de área ocorreu nas folhas do tratamento sol.

As folhas de sol de *M. ilicifolia* são mais espessas em função das células mais longas do parênquima paliçádico, que conseqüentemente, comportam maior concentração de clorofila (HANBA; KOGAMI; TERASHIMA, 2002). Resultados semelhantes foram obtidos em outros estudos sob o mesmo enfoque (YAMASHITA; KOIKE; ISHIDA, 2002; BOEGER; POULSON, 2003). Em contrapartida, para *V. megapotamica* ocorreram os maiores valores médios das concentrações de clorofilas nos tratamentos mais sombreados. Estudos com espécies de *Miconia* (MARQUES et al., 2000) e *Acer* (HANBA; KOGAMI; TERASHIMA, 2002) também observaram uma tendência para maiores concentrações de clorofila em folhas de ambientes sombreados. Nas folhas de sombra há maior concentração de clorofila *b* por centro de reação (TAIZ; ZEIGER, 2004) para efetivar a eficiência destas folhas na captura da radiação menos intensa em ambientes sombrios (DIAS, 2005).

Os resultados das concentrações de clorofila para as duas espécies foram controversos, mas provavelmente as diferenças encontradas residem nas diferenças da organização e espessura dos tecidos, assim como nas demandas de luz de cada espécie (BOARDMAN, 1977; GIVNISH, 1988; HANBA; KOGAMI; TERASHIMA, 2002).

De acordo com a análise química do solo, a acidez é bastante elevada. As quantidades de Cálcio e Magnésio são baixas, contudo, a quantidade de fósforo é limitante e a de Nitrogênio é adequada. O tipo de solo do local de estudo (cambissolo aplico distrófico) é considerado um solo em processo de formação, com alta relação silte/argila, por isso disponibiliza grande quantidade de nutrientes para

as plantas e possui grande quantidade de silte para ser intemperizada. Apesar de ser um solo álico, não prejudica o crescimento e o desenvolvimento das espécies em estudo e ainda apresenta-se com boa disponibilidade de nutrientes para o crescimento de espécies nativas, podendo ser considerado fértil (REISSMANN, comunicação pessoal).

Comparativamente, as espécies estudadas apresentaram para algumas variáveis (área foliar, massas fresca e seca, conteúdo de água, área específica foliar, densidade estomática, espessura da face adaxial da epiderme, espessura do parênquima lacunoso e espessura total da lâmina) padrões semelhantes, sendo que as diferenças entre os tratamentos para as duas espécies são mais marcantes entre os tratamentos sol e sombra, para a maioria dos caracteres analisados.

O tratamento meia sombra, na maioria dos casos, apresentou valores médios intermediários ou acima dos demais tratamentos. O tratamento meia sombra representou uma baixa intensidade luminosa (cerca de 23%), o que aproxima este tratamento à condição do tratamento sombra. Entretanto, a pequena diferença de intensidade luminosa entre os tratamentos parece ter sido suficiente para provocar modificações morfoanatômicas, principalmente, na espessura dos tecidos da lâmina foliar nas folhas das espécies estudadas, indicando que pequenas variações nos níveis de intensidade luminosa são suficientes para a manifestação da plasticidade fenotípica foliar (SANTIAGO et al., 2001; HANBA; KOGAMI; TERASHIMA, 2002).

Para o produtor de espécies medicinais lhe interessa o tratamento de luz que melhor proporcione a maior quantidade de massa seca foliar. De acordo com os dados obtidos no presente estudo, apesar de não ter sido constatado diferenças significativas entre os valores médios do massa seca das folhas das plantas nos três tratamentos de luz, as folhas mais espessas de *M. ilicifolia* e *V. megapotamica* desenvolvidas sob sol pleno e meia sombra, parecem prover maior quantidade de matéria verde, em função do maior desenvolvimento dos tecidos clorofilianos.

Contudo, é fundamental salientar a importância de se associar os resultados obtidos neste trabalho com os resultados observados pelas outras áreas envolvidas ao projeto maior, principalmente, à área que se relaciona à quantificação de princípio ativo nas folhas de *M. ilicifolia* e *V. megapotamica* nos diferentes tratamentos de luz, para que seja indicado ao produtor a condição mais adequada para o cultivo destas espécies medicinais.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALQUINI, Y., TAKEMORI, N. Y. **Organização estrutural de espécies vegetais de interesse farmacológico**. Curitiba: Herbarium, 2000.

ALVARENGA, A. A. de; CASTRO, E. M. de; LIMA JUNIOR, E.; MAGALHAES, M. M. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. In southeastern Brazil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 53-57, 2003.

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

ASHTON, P. M. S.; BERLYN, G. P. A comparison of leaf physiology and anatomy of *Quercus* (Section *Erythrobalanus*-Fagaceae) species in different light environments. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 81, n. 5, p. 589-597, 1994.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical Microtechnique and Cytochemistry**. Ames : The Iowa State Press, 1976. 326p.

BERNARDI, H. H.; WASICKY, M. **Algumas pesquisas sobre espinheira-santa ou cancerosa *Maytenus ilicifolia* Martius usada como remédio popular no R. S. Santa Maria: Centro de Pesquisas, 1959.**

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

BOEGER, M. R. T.; POUSON, M. E. Morphological adaptations and photosynthetic rates of amphibious *Veronica anagallis-aquatica* L. (Scrophulariaceae) under different flow regimes. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 75, p. 123-135, 2003.

BONGERS, F.; POPMA, J. Leaf characteristics of the tropical rain forest flora of Los Tuxtlas, Mexico. In: BONGERS, F.; POPMA, J. (Eds.) Trees and gaps in a Mexican tropical rain forest. Netherlands Organization for the Advancement of Pure Research. Mexico, 1988.

BRITO, C. J. F. A. de.; ALQUINI, Y. A new method for staining botanical material embedded in glycol-metha chrylate (GMA). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 39, n. 4, p. 949-951, 1996.

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

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

CLABBY, G.; OSBORNE, B. A. Irradiance and nitrate-dependent variation in growth and biomass allocation of *Mycelis muralis*. An analysis of its significance for a functional categorization of sun and shade plants. **New phytologist**, Cambridge, v. 135, p. 539-547, 1997.

CORRÊA, J.R.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais condimentares e aromáticas**. Curitiba: Emater – PR, 1991. 162p.

DALE, J. E. How do leaves grow? **Bioscience**, Washington, v. 42, n.6, p. 423-432, 1992.

DE BONA, C. M.; BIASI, L. A.; COSTA, G.; ZANETTE, F.; NAKASHIMA, T. Calagem e sombreamento na produção de biomassa e rendimento de óleo essencial em carqueja (*Baccharis trimera* A. P. de Candolle). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, n. 1, p. 28-32, 2003.

DIAS, J. **Aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de folhas de sol e de sombra de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae)**. Londrina. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina.

DIAS-FILHO, M. B. Growth and biomass allocation os the C₄ grasses *Brachiaria brizantha* and *B. humidicola* under shade. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 2335-234, 2000.

DICKISON, W. C. **Integrative Plant Anatomy**. San Diego : Harcourt Academic Press, 2000.

DOP, P.; GAUTIÉ, A. **Manual of Technique Botanique**. Paris: J. Lamarre, 1928.

DUARTE, M. R.; DEBUR, M. C. Stem and leaf morphoanatomy of *Maytenus ilicifolia*. **Fitoterapia**, Amsterdan, v. 76, p. 41-49, 2005.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: Embrapa Produção da Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 1999. 412p.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blücher, 1977. 293 p.

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

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

FAHN, A.; CUTTER, D. F. **Xerophytes**. Edição. Berlin: Gebrüder Borntraeger Stuttgart. 1992.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Atheneu. 2003.

FEDER, N.; O'BRIAN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 55, n. 1, p. 123-124, 1968.

FRANKLIN, G. L. A rapid method of softening wood for microtome sectioning. **Australian Journal of Botany**, East Melbourne, v. 33, p. 393-408, 1946.

GIANOLI, E. Phenotypic responses of the twining vine *Ipomea purpurea* (Convolvulaceae) to physical support availability in sun and shade. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 165, p. 21-26, 2002.

GIANOLI, E. Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. **Internacional Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 165, n. 5, p. 825-832, 2004.

GIVNISH, T. J. Adaptation to Sun and Shade: A Whole-plant Perspective. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 15, p. 63-92, 1988.

GONÇALVES, J. F. de C.; VIEIRA, G.; MARRENCO, R. A.; FERRAZ, J. B.; JUNIOR, U. M. dos S.; BARROS, F. C. Nutricional status and specific leaf área of mahogany and tonka beans under two light environments. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 35, n. 1, p. 23-27, 2005.

GONZÁLEZ, A. V.; GIANOLI, E. Morphological plasticity in response to shading in three *Convolvulus* species of different ecological breadth. **Acta Oecologica**, Paris, v. 26, p. 185-190, 2004.

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

HINSBERG, A. van; TIENDEREN, P. van. Variation in growth form in relation to spectral light quality (red/far-red ratio) in *Plantago lanceolata* L. in sun and shade populations. **Oecologia**, Berlin, v. 111, p. 452-459, 1997.

HLWATIKA, C. N. M.; BHAT, R. B. An Ecological Interpretation of the Difference in Leaf Anatomy and its Plasticity in Costrasting Tree Species in Orange Kloof, Table Mountain, South Africa. **Annals of Botany**, London, v. 89, p. 109-114, 2002.

INOUE, M. T.; RODERJAN, C. V.; KUNIYOSHI, Y. S. **Projeto Madeira do Paraná**. Curitiba : FUPEF, 1984.

JACOMASSI, E.; MACHADO, S. R. Características anatômicas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek e *Maytenus aquifolia* Mart.) e mata-olho (*Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg. Lanj. & Boer.) para o controle de qualidade da matéria prima. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, n. 1, p. 84-96, 2003.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York : McGraw Hill Book, 1940.

JOFFILY, A.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Maytenus* Mol. Emend Mol. (Celastraceae), ocorrente no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 19, n. 3, p. 549-561, 2005.

JURIK, T. W.; CHABOT, J. F.; CHABOT, B. F. Effects of light and nutrients on leaf size, CO₂ exchange, and anatomy in wild strawberry (*Fragaria virginiana*). **Plant Physiology**, Lancaster, v. 70, p. 1044-1048, 1982.

KAKANI, V. G.; REDDY, K. R.; ZHAO, D.; MOHAMMED, A. R. Effects of ultraviolet on Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. **Annals of Botany**, London, v. 91, p. 817-826, 2003.

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

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

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro : Ed. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1997.

LEITE, A. Ma. C.; LLERAS, E. Ecofisiologia de plantas da Amazônia. Anatomia foliar e ecofisiologia de *Pogonophora schomburgkiana* Miers. (Euphorbiaceae). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 8, n. 3, p. 365-370, 1978.

LEMOS, R.C.; SANTOS, R.D. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. 3. ed. Campinas : Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996. 84p.

LESSA-RICKLI, F.; MACCARI JUNIOR., A.; MARIANO, J.; FERNANDES, J. S. C.; MAZUCHOWSKI, J. Z. Análise do desenvolvimento de plantas de Erva-mate de espécies nativas medicinais em três diferentes condições de luminosidade). CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 3. , 2003, CHAPECO; FEIRA DE AGRONEGÓCIOS DE ERVA-MATE, 1., Chapecó, 2003. **Resumos**. Chapecó: EPAGRI, 2003.

LEWIS, M. C. The physiological significance of variation in leaf structure. **Science Progress**, Northwood, v. 60, p. 25-51, 1972.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1998. v.2.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: , SP: Instituto Plantarum, 2002.

MAGALHÃES, P. M. de. **Agrotecnologia para o cultivo da Espinheira-santa** . 2002. Disponível em: <<http://cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/agroespsant.htm>.> Acesso em: 22 nov. 2004.

MARQUES, A. R.; GARCIA, Q. S.; FERNANDES, G. W. 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 de São Paulo**, São Paulo, v. 18, p. 21-27, 1999.

MARQUES, A. R.; GARCIA, Q. S.; REZENDE, J. L. P.; FERNANDES, G. W. Variations in leaf characteristics of two *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. **Tropical Ecology**, Varanasi, v. 41, n. 1, p. 47-60, 2000.

MARQUESINI, R. N. **Plantas usadas como medicinais pelos índios do Paraná e Santa Catarina, Sul do Brasil**. Curitiba. 1995. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

MARTINS, S. V. **Recuperação de matas ciliares**. Viçosa : Aprenda Facil Ed., 2001.

MEDRI, M. E.; LLERAS, E. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* Müell. Arg.. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 10, n. 3, p. 463-493, 1980.

MENDES, M. M.; GAZARINI, L. C.; RODRIGUES, M. L. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments – effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 45, p. 165-178, 2001.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Oxford : Clarendon, 1950. v. 1, p. 387-97.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of dicotyledons**. 2.ed. Oxford: Clarendon, 1981. v.1.

MILANEZE-GUTIERRE, M. A.; MELLO, J. C. P.; DELAPORTE, R. H. Efeitos da intensidade luminosa sobre a morfo-anatomia foliar de *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae) e sua importância no controle de qualidade da droga vegetal. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 23-33, 2003.

MONTANARI, R. M.; SOUSA, L. A.; LEITE, M. N.; COELHO, A. D. F.; VICCINI, L. F.; STEFANI, M. B. 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**, Botucatu, v. 6, n. 3, p. 96-101, 2004.

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

MULLAN, D. P. Observations on the water-storing devices in the leaves of some Indian halophytes. **Journal of the Indian Botanical Society**, Madras, v. 10, p. 126-134, 1931.

O'BRIEN, T. P.; McCULLY, Y. E. **The study of plants structure: principles and selected methods**. Melbourne : Termercarphy, 1981.

OKANO, R. M. C. Flora fanerogamica da reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (S. Paulo-Brasil). **Hoehnea**, São Paulo, v. 27, n. 1, p.27-29, 2000.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário de Plantas úteis do Brasil e das Exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional. 1984.

PORRA, R. J.; THOMPSON, W. A.; KRIEDMANN, P. E. 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. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 975, p. 384-394, 1989.

PROIETTI, P.; PALLIOTTI, A.; FAMIANI, F.; ANTOGNOZZI, E., FERRANTI, F.; ANDREUTTI, R.; FRENGUELLI, G. Influence of leaf position, fruit and light availability on photosynthesis of two chestnut genotypes. **Scientia Horticulturae**, Netherlands, v. 85, p. 63-73, 2000.

RADOMSKI, M. I.; WISNIEWSKI, C.; CURCIO, G. R.; RACHWAL. M. G.; SANTOS, C. A. M. Caracterização de ambientes de ocorrência natural e sua influência sobre o massa específico e o teor de polifenóis totais de folhas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, n. 2, p. 36-43, 2004.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto Madeira do Rio Grande do Sul. **Sellowia**, Itajaí, n. 34-35, 1983.

RÔÇAS, G.; SCARANO, F. R. Leaf anatomical variation in *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) under distinct light and soil water regimes. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 136, p. 231-238, 2001.

SAKAI, W. S.; HANSON, M.; JONES, C. R. Raphids with barbs and grooves in *Xanthosoma sagittifolium*. **Science**, Washington, v. 178, p. 314-315, 1973.

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

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2ª ed. Ames. The Iowa State College Press., 1951. 391 p.

SERT, M. A. **Anatomia foliar e teores de clorofila em três variedades de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e dois níveis de radiação solar**. Viçosa. 1991. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa.

SMITH, W. K.; BELL, D. T.; SHEPHERD, K. A. Associations between leaf structure, orientation, and sunlight exposure in five Western Australian communities. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 85, n. 1, p. 56-63, 1998.

SMITH, W. K.; NOBEL, P. S. Influence of irradiation, soil water potential, and leaf temperature on leaf morphology of a desert broadleaf, *Encelia farinosa* Gray (Compositae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 65, n. 4, p. 429-432, 1978.

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

STRAUSS-DEBENEDETTI, S.; BERLYN, G. P. Leaf anatomical responses to light in five tropical Moraceae of different successional status. **American Journal of Botany**, Columbus, v.81, n.12, p.1582-1591, 1994.

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

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.

VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M.; CERVI, A. C. High resolution gas chromatography analysis of "espinheira-santa" (*M. ilicifolia* and *M. aquifolium*): analysis of crude drug adulterations. **Phytotherapy Research**, Londres, v. 8, p. 241-244, 1994.

VOGELMANN, T. C.; NISHIO, J. N.; SMITH, W. K. Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. **Trends in plant Science**, Oxford, v. 1, n. 2, p. 65-70, 1996.

WEBB, M. A.; CAVALETTO, J. Intravacuolar membrane systems associated with calcium oxalate formation in grape (*Vitis labrusca*). **Plant Physiology (Minneapolis) Supplement**, v.105, n. 1, p.55, 1994.

WEBB, M. A. Cell-mediated crystallization of calcium oxalate in plants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 11, p. 751-761, 1999.

WESTOBY, M.; FALSTER, D. S.; MOLES, A. T.; VESK, P. A.; WRIGHT, I. J. Plant Ecological Strategies Some Leading Dimensions of Variation Between Species. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 33, p. 125-159, 2002.

WITKOWSKI, E. T. F.; LAMONT, B. B. Leaf Specific mass confounds leaf density and thickness. **Oecologia**, Berlin, v. 88, p. 486-493, 1991.

YAMASHITA, N.; KOIKE, N.; ISHIDA, A. Leaf ontogenetic dependence of light acclimation in invasive and native subtropical trees of different successional status. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, p. 1341-1356, 2002.

YANO, S.; TERASHIMA, I. Developmental process of sun and shade leaves in *Chenopodium album* L. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 27, p. 781-793, 2004.