27 de setembro a 01 de outubro de 2010

PLASTICIDADE ANATÔMICA DA FOLHA DE *Plectranthus ornatus* CODD. CULTIVADO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE SOMBREAMENTO

MARINÊS FERREIRA PIRES, FABRICIO JOSÉ PEREIRA², EVARISTO MAURO DE CASTRO³, SANDRO BARBOSA⁴, AMANDA CRISTINA RODRIGUES⁵

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar as modificações anatômicas da folha de boldo rasteiro submetidas a diferentes níveis de sombreamento, a fim de se obter melhores condições de cultivo dessa espécie medicinal. Foram utilizadas mudas provenientes de estacas, plantadas em solo contendo matéria orgânica e submetidas a condições de pleno sol, sombrite 50% e sombrite 70% por um período de 60 dias. As primeiras folhas completamente expandidas a partir do ápice caulinar foram coletadas e fixadas em F.A.A₇₀, sendo posteriormente submetidas às metodologias usuais em microtécnica vegetal. As folhas responderam às diferentes condições de sombreamento apenas nos parâmetros de espessura da epiderme da face abaxial e adaxial, espessura do mesofilo e espessura do colênquima. Para os demais parâmetros analisados não houve diferenças estatisticamente significativas. Isso, provavelmente, demonstra a capacidade para se desenvolverem em ambientes em condições heterogêneas de luz. Embora outros estudos, ainda, sejam necessários.

Palavras-chaves: Plantas medicinais, Boldo rasteiro, Lamiaceae, Qualidade de luz e Anatomia vegeta

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais está profundamente arraigado na cultura brasileira, sendo as espécies conhecidas indistintamente como boldo, muito utilizadas. Representando a família Lamiaceae, *Plectranthus ornatus* Codd. (*Coleus comosus* Hochst. Ex Guerke) é uma das espécies de boldo que desperta a atenção por suas propriedades farmacológicas, tais como antipirético, analgésico e contra perturbações no figado (MARTINS et al., 2005), possuindo compostos como flavonóides, taninos (MARTINS et al., 2005) e diterpenos (OLIVEIRA et al., 2005). Além disso, suas folhas apresentam epiderme unisseriada, tricomas tectores e glandulares, mesofilo homogêneo e estômatos anomocíticos (MAURO et al., 2008).

Em geral, as plantas podem ser muito influenciadas pela intensidade de luz recebida durante o crescimento e desenvolvimento (GONDIM et al., 2008), sendo a anatomia foliar um dos aspectos mais afetados, uma vez que a folha é um órgão plástico e sua estrutura interna adapta-se às condições externas do ambiente (SCHLUTER et al., 2003). Assim, as modificações morfofisiológicas que ocorrem nas plantas são relacionadas principalmente com a manutenção da eficiência do balanço entre o ganho de carbono, pela fotossíntese, e a perda de água, pela transpiração (TAIZ & ZEIGER, 2009), sob diferentes regimes de sombreamento.

Informações sobre as variações da morfologia foliar dessa espécie em diferentes regimes de luz podem contribuir para o delineamento de métodos de cultivo. Desse modo, as características morfológicas representam do ponto de vista produtivo, um fator importante tanto na produtividade das plantas quanto na qualidade do fitoterápico fabricado a partir da matéria-prima cultivada.

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes intensidades de sombreamento sobre aspectos anatômicos quantitativos da lâmina foliar de *Plectranthus ornatus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Foram coletadas estacas provenientes de ramos ortotrópicos de plantas de boldo rasteiro (*Plectanthus ornatus*) localizadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras. Utilizaram-se bandejas de isopor com células de 25 cm³, onde as estacas foram fixadas e, posteriormente, encharcadas com água.

27 de setembro a 01 de outubro de 2010

As bandejas foram colocadas em câmara de crescimento à temperatura de 25 °C, sob iluminação artificial e fotoperiodo de 12 horas com lâmpadas fluorescentes gerando 78,5 µmol.m-2.s-1 de densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA), onde permaneceram por 30 dias, sendo irrigadas diariamente. Em seguida, as estacas selecionadas quanto à uniformidade de tamanho foram desfolhadas e transferidas para sacos plásticos contendo latosolo coletado na UFLA, sendo irrigadas diariamente. Foram conduzidos três tratamentos (qualidades de radiação) contendo 20 plantas em cada: pleno sol (PS), sombrite 50% (S50) e sombrite 70% (S70), durante um período de 60 dias.

Análise anatômica

Após o período experimental foram coletadas 5 folhas por planta de um total de 10 plantas por tratamento. Estas folhas foram fixadas em F.A.A.₇₀ (JOHANSEN, 1940) por um período de 48 horas, sendo então transferidas para etanol 70% até a data das análises. As folhas foram levadas ao Laboratório de Anatomia Vegetal da UFLA, onde foram realizados cortes paradérmicos à mão livre com auxílio de lâminas de aço inox das face abaxial e adaxial das folhas e, ainda, cortes transversais em micrótomo de mesa (MELO et al., 2007). Os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio 50% por 10 minutos, lavados 2 vezes em água destilada por 10 minutos, corados com safranina 1% (cortes paradérmicos) e safrablau (cortes transversais) por 30 segundos, sendo então lavados em água destilada e montados em lâmina com glicerina 50% (KRAUS & ARDUIN, 1997)

As lâminas foram observadas em microscópio óptico acoplado à câmera digital com a qual foram realizadas fotomicrografías. As fotografías foram utilizadas para as medições dos parâmetros anatômicos em um programa de análise de imagem (Imagetool – UTHSCSA) calibrado com régua microscópica fotografada nos mesmos aumentos. Para cada característica anatômica foram realizadas quatro medições em cada fotografía para cada repetição.

As seguintes características foram avaliadas: espessura da epiderme das faces abaxial e adaxial, espessura do mesofilo, espessura da cutícula, espessura do colênquima, espessura do esclerênquima, espessura do floema e o diâmetro das células de metaxilema na nervura central, densidade estomática, índice estomático, diâmetro polar e equatorial dos estômatos e funcionalidade estomática.

Análise estatística

O delineamento foi inteiramente casualizado com 60 repetições e três tratamentos. Os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homocedascidade pelo teste de Lavene. Foi realizada análise de variância com o teste de F para detectar as diferenças entre os tratamentos e o Skott-Knott a 5% para separação das diferentes médias em software de análise estatística Sisvar (FERREIRA, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de espessura da cutícula (EC), espessura do esclerênquima (ESC), espessura do floema (EFL), diâmetro das células de metaxilema (DMX), densidade estomática (DE), índice estomático (IE) e funcionalidade estomática (FE) não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Isso demonstra, provavelmente, que não houve influencia da intensidade de luz para essas características nas condições do experimento..

Os dados observados para espessura da cutícula (Tab. 1) contraria os resultados encontrados por Chiamolera et al. (2010) ao estudar respostas morfoanatômicas da folha de *Podocarpus lambertii*. Nesse estudo a espessura da cutícula mostrou diferença significativa entre os tratamentos, sendo maior para os indivíduos da área aberta (pleno sol), aumentando, assim, a proteção contra o excesso da radiação e reduzindo a transpiração. Dessa forma, nas condições desse experimento, mesmo a pleno sol as condições podem não ter sido excessivas e não promoveram estresse por excesso de radiação ou temperatura, sendo desnecessário para essas plantas o investimento em uma cutícula mais espessa.

27 de setembro a 01 de outubro de 2010

Os resultados observados para EFL e DMX também diferem de outros trabalhos (Tab. 1). Ao contrario do que foram observados para boldo rasteiro, os valores relacionados ao sistema vascular não condizem com os relatados, normalmente, na literatura, onde ocorrem maiores proporções de tecidos vasculares em plantas que se desenvolvem sob maior intensidade luminosa (LEE et al., 2000).

Tabela 1. Características anatômicas em secção transversal de folhas de *P. ornatus* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento.

Característica	Pleno sol	50%	<i>70%</i>
EPB (µm)	0028,40 b	030,40 b	0033,34 a
EPD (µm)	0032,44 b	037,70 a	0039,67 a
EM (µm)	1186,69 a	941,88 b	1008,96 b
EC (µm)	0021,36 a	021,85 a	0022,22 a
COL (µm)	0046,58 b	047,14 b	0054,58 a
ESC (µm)	0025,79 a	023,81 a	0025,94 a
EFL (μm)	0038,80 a	039,16 a	0038,81 a
DMX (µm)	0017,38 a	018,47 a	0019,01 a

EPB= espessura epiderme abaxial, EPD= espessura da epiderme adaxial, EM= espessura do mesofilo, EC= espessura da cutícula, COL= espessura do colênquima, ESC= espessura do esclerênquima, EFL= espessura do floema da folha, DMX= diâmetro das células de metaxilema da folha. As médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade.

Tabela 2. Características anatômicas em secção paradérmica de folhas das estacas de *P. ornatus* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento.

Característica	Pleno sol	50%	70%
DEB (est.mm ²)	50,40 a	49,60 a	45,60 a
DED (est.mm ²)	38,00 a	32,40 a	31,60 a
IEB	00,13 a	00,12 a	00,12 a
IED	00,10 a	00,10 a	00,09 a
FEB	01,36 a	01,32 a	01,29 a
FED	01,35 a	01,33 a	01,35 a

DED= densidade estomática na face adaxial, DEB= densidade estomática na face abaxial, IED= índice estomático na face adaxial, IEB= índice estomático na face abaxial, FEB= funcionalidade estomática na face abaxial, FED= funcionalidade estomática na face adaxial. As médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade.

Em relação à densidade estomática (Tab. 2) os resultados observados para essa espécie diferem de outros estudos. Assim, o número de estômatos em ambas as faces da folha de taro [Colocasia esculenta (L.) Schott] diminuiu a partir de 30% de sombreamento, segundo Gondim et al (2008). É comum a diminuição da densidade dos estômatos por unidade de área, que geralmente está relacionada ao aumento do tamanho das células epidérmicas em condições de maior sombreamento (MORAIS et al., 2004). Do mesmo modo, Chiamolera et al (2010) encontrou maior densidade estomática em Podocarpus lambertii cultivadas em área aberta (pleno sol), corroborando, assim, com uma série de estudos que apontam uma correlação positiva entre o aumento da luminosidade e densidade estomática (Costa et al., 2007).

Lima Jr. et al (2006) ao estudar os aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de Cupania vernalis Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento, verificou que o número de estômatos por área, o número de células e o índice estomático foram superiores em plantas cultivadas a pleno sol e 30% de sombreamento. Além disso, os autores observaram que os estômatos das folhas das plantas submetidas a pleno sol e 50% de sombreamento eram menores em diâmetro equatorial, enquanto em

27 de setembro a 01 de outubro de 2010

relação ao diâmetro polar não foram verificadas diferenças entre os tratamentos. Tais resultados diferem do que foi encontrado para o boldo rasteiro (Tab. 2). A manutenção da densidade estomática mesmo em condições de maior sombreamento pode permitir que essas plantas realizem uma maior captação de CO₂ que poderá ser fixado na fotossíntese e compensar a redução que essa característica sofre em condições de menor intensidade de radiação.

Por outro lado, verificou-se que a espessura da epiderme da face abaxial (EPB) é cerca de 11,79% maior nas plantas crescidas a 70% de sombreamento em relação aos demais tratamentos. Enquanto que a espessura da face adaxial (EPD) foi menor nas plantas cultivadas em pleno sol, quando comparada aos sombreamentos de 50 e 70% que apresentaram valores semelhantes para esse parâmetro. Além disso, a espessura do mesofilo (EM) mostrou-se 17,80% maior no tratamento a pleno sol e a espessura do colênquima (COL) foi 14,14% maior a 70% de sombreamento , em relação aos demais tratamentos (Tab. 1).

Resultados diferentes são encontrados na literatura em relação à espessura da epiderme foliar. Pinto et al. (2007) observou em folhas de alfazema-do-Brasil (*Aloysia gratissima* [Gilles & Hook.] Tronc.) cultivadas a pleno sol, uma maior espessura da epiderme na face adaxial em relação aos demais tratamentos.

A redução na espessura do mesofilo sob sombreamento já foi observada em outros trabalhos, como Gondim et al. (2008) ao estudar a plasticidade de folhas de taro [Colocasia esculenta (L.) Schott]. Folhas produzidas sob condições de alta luminosidade tendem a ser menores e mais espessas, com aumento de mesofilo por unidade de área. Essas variações estruturais são, provavelmente, associadas com a regulação da refração luminosa e difusão gasosa dentro da folha, maximizando a eficiência fotossintética (TERASHIMA et al., 2006).

Em relação ao colênquima, os resultados encontrados foram de acordo com os observados por Gondim et al. (2008), onde a porcentagem de colênquima na seção transversal da folha de taro [Colocasia esculenta (L.) Schott] aumentou significativamente a partir de 30% de sombreamento. Isso pode estar relacionado ao um aumento da área foliar em condições de maior sombreamento e ao equilíbrio da arquitetura foliar com o incremento de tecido de sustentação.

CONCLUSÃO

As diferentes condições de sombreamento promovem modificações na anatomia foliar do boldo rasteiro e essas condições podem promover modificações nas características fisiológicas dessas plantas. As condições de sombreamento promoveram melhores condições de cultivo para as plantas por possibilitarem melhores condições de desenvolvimento da epiderme e do colênquima, além da manutenção das características estomáticas que podem possibilitar a manutenção da fotossíntese em condições de sombreamento.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

COSTA, L. C. B.; CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; ALVES, E.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ROSAL, L. F.; MOREIRA, C. M. Aspectos da anatomia foliar de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências,** v. 5, n. 1, p. 6-8, 2007.

FERREIRA, D. F. SISVAR 5.0 Sistema de analises estatísticas. Lavras: UFLA, 2007.

GONDIM, A. R. O.; PUIATTI, M.; VENTRELLA, M. C.; CECON, P. R. Plasticidade Anatômica da folha de Taro cultivado sob diferentes condições de sombreamento. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.4, p.1037-1045, 2008.

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. 2. ed. New York: Mc-Graw-Hill, 523p., 1940.

27 de setembro a 01 de outubro de 2010

- KRAUS, J. E. & ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica, EDUR, Rio de Janeiro, 1997.
- LEE, D.W.; OBERBAUER, S.F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; OHAMAD, H.; YAP, S.K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian Hopea (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, Columbus, v.87, n.4, p.447-455, 2000.
- LIMA JR., É. C.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; VIEIRA, C. V.; BARBOSA, J. P. R. A. D. Aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.30, n.1, p.33-41, 2006.
- MARTINS, L. G. S.; SENNA-VALLE, L.; PEREIRA, N. A. Princípios ativos e propriedades farmacológicas de 8 plantas popularmente conhecidas por nome de medicamentos comerciais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.7, n.2, p.73-76, 2005.
- MAURO, C.; SILVA, C. P.; MISSIMA, J.; OHNUKI, T.; RINALDI, R. B.; FROTA, M. Estudo anatômico comparado de órgãos vegetativos de boldo miúdo, *Plectranthus ornatus* Codd. e malvariço, *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 4,p. 608-613, 2008.
- MELO, H. C.; CASTRO, E. M.; SOARES, A. M.; MELO, L. A.; ALVES, J. D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico, **Hoehnea**, v. 34, n. 2, p.145-153, 2007.
- MORAIS, H.; MEDRI, M.E.; MARUR, C.J.; CARAMORI, P.H.; RIBEIRO, A.M.A. GOMES, J.C. Modifications on Leaf Anatomy of Coffea arabica caused by Shade of Pigeonpea (Cajanus cajan). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n. 6, p.863-871, 2004.
- OLIVEIRA, P. M.; FERREIRA, A. A.; SILVEIRA, D.; ALVES, R. B.; RODRIGUES, G. V.; EMERENCIANO, V.P.; RASLAN, D. S. Diterpenoids from the Aerial Parts of *Plectranthus ornate.*, **Journal of Natural Product.** v.68, n.4, p 588–591, 2005.
- SCHLUTER, U. et al. Photosyntetic performance of na *Arabidopsis* mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. **Journal of Experimental Botany**, v.54, n.383, p.867-874, 2003.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 4. ed., Porto Alegre: Artmed, 719 p, 2009.
- TERASHIMA, I.; HANBA, Y. T.; TAZOE, Y.; VYAS, P.; YANO, S. Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO₂ diffusion. **Journal of Experimental Botany,** Eynshan, v. 57, n.2, p. 343–354, 2006.