



THAINÁ DE OLIVEIRA

**PROPAGAÇÃO, ANATOMIA E CULTIVO EM MALHAS
COLORIDAS DE *Stachytarpheta sellowiana* SCHAUER: UMA
PLANTA MEDICINAL AMEAÇADA DE EXTINÇÃO**

**LAVRAS-MG
2022**

THAINÁ DE OLIVEIRA

**PROPAGAÇÃO, ANATOMIA E CULTIVO EM MALHAS COLORIDAS DE
Stachytarpheta sellowiana SCHAUER: UMA PLANTA MEDICINAL AMEAÇADA DE
EXTINÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares, área de concentração em Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares, para a obtenção do título de Doutor.

Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci
Orientadora

Prof. PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto
Coorientador

**LAVRAS-MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA,
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Oliveira, Thainá de.

Propagação, anatomia e cultivo em malhas coloridas de
stachytarpheta sellowiana Schauer: uma planta medicinal ameaçada
de extinção / Thainá de Oliveira. - 2022.

132 p. : il.

Orientadora: Suzan Kelly Vilela Bertolucci.

Coorientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Gervão azul. 2. Germinação. 3. Crescimento. I. Bertolucci,
Suzan Kelly Vilela. II. Pinto, José Eduardo Brasil Pereira. III. Título.

THAINÁ DE OLIVEIRA

**PROPAGAÇÃO, ANATOMIA E CULTIVO EM MALHAS COLORIDAS DE
Stachytarpheta sellowiana SCHAUER: UMA PLANTA MEDICINAL AMEAÇADA DE
EXTINÇÃO**

**PROPAGATION, ANATOMY AND CULTIVATION IN COLORED MESHES OF
Stachytarpheta sellowiana SCHAUER: AN ENDANGERED MEDICINAL PLANT**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares, área de concentração em Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 17 de março de 2022.

Prof. Dr. Osmar Lameira	EMBRAPA-CPATU-Belém
Dr. Alexandre Alves de Carvalho	DAG/ESAL/UFLA
Profa. Dra. Priscila Pereira Botrel	IFSUL DE MINAS – Campus Muzambinho

Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci
Orientadora

Prof. PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto
Coorientador

**LAVRAS-MG
2022**

AGRADECIMENTOS

À VIDA e a DEUS.

À minha família e amigos.

Às agências de fomento: CAPES, FAPEMIG, CNPq.

Aos técnicos e professores responsáveis pelos laboratórios, que me auxiliaram e orientaram, durante todo processo de produção experimental; Laboratório de Fitoquímica do Horto de Plantas Mediciniais (DAG-UFLA), Cultura de Tecidos (DAG- UFLA), Microscopia eletrônica e análise ultraestrutural (DFP - UFLA), Laboratório de anatomia vegetal (DBI - UFLA), Laboratório central de pesquisa em sementes - LCPS (DAG - UFLA).

Aos meus orientadores Suzan Kelly Vilela Bertolucci, José Eduardo Brasil Pereira Pinto e Manuel Losada Gavilanes, por abraçarem a causa, em trabalhar junto comigo, com uma planta selvagem, com quase nenhum tipo de estudo publicado até o presente momento.

E a mim mesma por não desistir e, mesmo com muito medo e muitos obstáculos, consegui finalizar a etapa mais importante da minha vida até hoje!

“Gervão, uma flor que, quando abre seu botão, encanta nosso coração. Com flores azuis celestiais, é claro que sempre duras. Coisas lindas de se ver, que chega até doer. Quando na serra te encontrei, quase não acreditei, que emoção que eu fiquei, a minha tese eu criei! Receios é claro que eu tenho, mas a minha confiança eu detenho. Só depende de mim, igual à cor vermelha do carmim. No final de tudo, nada disso faz sentido, porém nada tenho temido!”
(Thainá de Oliveira)

RESUMO GERAL

Stachytarpheta sellowiana Schauer é uma planta nativa e endêmica do Brasil, pertencente à família Verbenaceae, ocorrendo, principalmente, no domínio fitogeográfico do Cerrado, em áreas de Campo Rupestre e encontra-se ameaçada de extinção. Por ser uma planta selvagem, esta espécie carece de estudos para a sua domesticação, tais como propagação, anatomia e fisiologia. O presente estudo objetivou: avaliar diferentes métodos de propagação de *S. sellowiana*; analisar as características morfoanatômicas das folhas de *S. sellowiana* de dois ambientes naturais e avaliar o efeito de malhas coloridas no crescimento vegetativo e produção de metabólitos secundários da espécie. No primeiro experimento, foram avaliados três métodos de propagação: sexuada com diferentes lotes de sementes, assexuada por estaquia e estabelecimento *in vitro*. Para os testes de germinação, foram utilizados lotes de sementes coletadas no habitat natural de plantas cultivadas, em casa de vegetação e em canteiros a pleno sol. A partir dessas sementes, foram realizados experimentos, utilizando-se diferentes tipos de substratos para germinação (mistura terra/areia na proporção 2:1 e papel), cinco intensidades luminosas de LED (26; 70; 100; 113; 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e sete espectros de luzes (vermelha; azul; verde; branca; 70% vermelha: 30% azul; 50% vermelha: 50% azul; 30% vermelha: 70% azul). Para a propagação assexuada, utilizaram-se estacas nodais e apicais, medindo aproximadamente 10 cm, as quais foram transferidas para bandejas contendo quatro tipos de substratos diferentes (ambiente natural, terra/areia 2:1, terra, areia) por 90 dias. Explantes apicais de plantas matrizes cultivadas em casa de vegetação foram utilizadas para o estabelecimento *in vitro*, em quatro tipos diferentes de meio de cultura (MS, MS/2, B5 e WPM). Para o cultivo *in vitro*, foi indicada a propagação em meio acidificado, pois, em pH 5,8, há o desenvolvimento de bactérias. A forma de propagação mais indicada para a espécie foi via estaca de segmentos nodais estabelecidas no substrato terra do tipo latossolo vermelho. A propagação por sementes pode ser empregada. Entretanto, é altamente influenciada pelo substrato e pelas intensidades e qualidade luminosa. No segundo experimento, foram coletadas folhas em dois ambientes naturais da Serra do Campestre (Cerrado, considerado por alguns como savana e Campo Rupestre de vegetação montana gramíneo-arbustiva). A partir das observações morfoanatômicas, as folhas foram classificadas como pilosas, nas quais ocorrem, em toda a epiderme, com maior frequência na face adaxial. Não foram observados tricomas tectores nas plantas do Cerrado. Para o experimento de malhas fotoseletivas, os tratamentos foram constituídos por plantas de *S. sellowiana* cultivadas sob malhas com 50% de sombreamento (preta, vermelha e azul) e sob pleno sol (controle). Após 300 dias, concluiu-se que as malhas fotoseletivas exercem alterações no crescimento, anatomia, produção de metabólitos e capacidade antioxidante de plantas de *S. sellowiana* cultivadas em vasos. A espécie pode ser cultivada sob pleno sol, para a obtenção de maior matéria seca. No entanto, para maior produção de compostos antioxidantes e iridoides, é indicado o cultivo sob malhas azuis.

Palavras-chave: Gervão azul. Germinação. Crescimento. Metabólitos secundários. Malhas fotoconversoras. Radiação. Qualidade luminosa. Propagação.

GENERAL ABSTRACT

Stachytarpheta sellowiana Schauer is a native and endemic plant from Brazil, belonging to the Verbenaceae family, occurring mainly in the phytogeographic domain of the Cerrado in areas of Campo Rupestre and is at threat of extinction. As it is a wild plant, this species lacks studies for its domestication, such as propagation, anatomy, and physiology. The present study aimed to: evaluate different *S. sellowiana*'s propagation methods, analyze the morphoanatomical characteristics of *S. sellowiana* leaves from two natural environments, and evaluate the effect of colored meshes on vegetative growth and secondary metabolites production of the species. In the first experiment, three propagation methods were evaluated: sexual with different seed lots, asexual by cutting, and *in vitro* establishment. For the germination tests, were used seeds lots collected in the natural habitat, seeds from plants grown in a greenhouse, and seeds from plants grown in full sunbeds. From these seeds, experiments were carried out using different types of substrates for germination (soil/sand mixture in the proportion 2:1 and paper), 5 LED light intensities (26; 70; 100; 113; 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and 7 light spectrums (red; blue; green; white; 70% red: 30% blue; 50% red: 50% blue; 30% red: 70% blue). For asexual propagation, nodal and apical cuttings measuring approximately 10 cm were used, which were transferred to trays containing four different types of substrates (natural environment, soil\sand 2:1, soil, sand) for 90 days. Apical explants of mother plants grown in a greenhouse were used for *in vitro* establishment, in four different types of culture medium (MS, MS:2, B5, and WPM). For *in vitro* cultivation, propagation in an acidified medium is indicated because at pH 5.8 there is the development of bacteria. The most suitable form of propagation for the species was via cutting of nodal segments established in the soil substrate of the red latosol type. Propagation by seeds can be employed. However, it is highly influenced by the substrate and the light intensities and quality. In the second experiment, leaves were collected in two natural environments of Serra do Campestre (Cerrado, considered by some to be savannah, and Campo Rupestre of montane grassy-shrubby vegetation). From the morphoanatomical observations, the leaves were classified as pilose, where they occur throughout the epidermis, more frequently on the adaxial surface. No tector trichomes were observed in Cerrado plants. For the photoselective mesh experiment, the treatments consisted of *S. sellowiana* plants grown under meshes with 50% shading (black, red, and blue) and under the full sun (control). After 300 days, we concluded that the photoselective meshes exert changes in growth, anatomy, production of metabolites, and antioxidant capacity of *S. sellowiana* plants grown in pots. The species can be grown under full sun to obtain greater dry matter. However, for greater production of antioxidant and iridoid compounds, cultivation under blue meshes is indicated.

Keywords: Blue Gervão. Cuttings. Germination. Development. Secondary metabolites. Photoconverting meshes. Radiation. Light quality.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1 - Sistema iridano para compostos iridoides. R = H ou glicose.24
- Figura 2 - Hábito da planta *Stachytarpheta sellowiana* cultivada em canteiro, no Horto de Plantas Medicinais, UFLA, em estágio de floração.....26

CAPÍTULO 2

- Figura 1 - Germinação de sementes de *Stachytarpheta sellowiana* oriundas de casa de vegetação e canteiro em diferentes substratos.57
- Figura 2 - Percentuais de enraizamento (A) e mortalidade (B) de estacas apicais e nodais de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer, nos diferentes tipos de substratos, após 90 dias de cultivo.58
- Figura 3 - Análises de crescimento dos propágulos de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer, em diferentes tipos de substratos, após 90 dias de cultivo.....59
- Figura 4 - Condução do experimento de enraizamento, com segmentos nodais e apicais, nos diferentes tipos de substratos.60
- Figura 5 - Estacas enraizadas de *Stachytarpheta sellowiana* após 90 dias de cultivo.61
- Figura 6 - Microscopia eletrônica no aumento de 200X das raízes de *Stachytarpheta sellowiana*.....62
- Figura 7 - Plântula de *Stachytarpheta sellowiana*, estabelecida no meio MS/2, após 90 dias de inoculação.....64

CAPÍTULO 3

- Figura 1 - Perfis espectrais das malhas utilizadas no experimento com plantas de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer.....77
- Figura 2 - Plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob diferentes tipos de malhas fotoseletivas e pleno sol, após 300 dias de cultivo.....85
- Figura 3 - *Stachytarpheta sellowiana*: Eletromicrografia de Varredura da face adaxial e abaxial das folhas.....91
- Figura 4 - Gráfico de *scores* e *loadings* da análise de componentes principais (PCA), na construção de correlação matricial, usando dados de Peso Seco de Folha (PSF); Peso Seco de Raiz (PSR); Peso Seco do Caule (PSC) Peso Seco Total

(PST); Flavonoides, Fenóis, Teor de Iridoides, Carotenoides, Clorofila Total; Número de Tricomas Totais (NTtotais) e a Área Foliar Total (AFT) de <i>Stachytarpheta sellowiana</i> cultivada sob malhas coloridas e pleno sol.	97
---	----

CAPÍTULO 4

Figura 1 - Cortes das folhas de <i>Stachytarpheta sellowiana</i> , para a fixação em Karnovsky.....	114
Figura 2 - Hábito da planta <i>Stachytarpheta sellowiana</i> , em estágio de floração, na Serra do Campestre, Lavras, MG.....	117
Figura 3 - <i>Stachytarpheta sellowiana</i> : Eletromicrografia de Varredura de folhas advindas do Cerrado.	118
Figura 4 - <i>Stachytarpheta sellowiana</i> : Eletromicrografia de Varredura, de folhas advindas do Campo Rupestre.	119
Figura 5 - <i>Stachytarpheta sellowiana</i> : microscopia de luz óptica de folhas.....	123

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1 - Sistema iridano para compostos iridoides. R = H ou glicose. 24
- Figura 2 - Hábito da planta *Stachytarpheta sellowiana* cultivada em canteiro, no Horto de Plantas Mediciniais, UFLA, em estágio de floração..... 26

CAPÍTULO 2

- Figura 1 - Germinação de sementes de *Stachytarpheta sellowiana* oriundas de casa de vegetação e canteiro em diferentes substratos. 57
- Figura 2 - Percentuais de enraizamento (A) e mortalidade (B) de estacas apicais e nodais de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer, nos diferentes tipos de substratos, após 90 dias de cultivo. 58
- Figura 3 - Análises de crescimento dos propágulos de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer, em diferentes tipos de substratos, após 90 dias de cultivo..... 59
- Figura 4 - Condução do experimento de enraizamento, com segmentos nodais e apicais, nos diferentes tipos de substratos. 60
- Figura 5 - Estacas enraizadas de *Stachytarpheta sellowiana* após 90 dias de cultivo. 61
- Figura 6 - Microscopia eletrônica no aumento de 200X das raízes de *Stachytarpheta sellowiana*..... 62
- Figura 7 - Plântula de *Stachytarpheta sellowiana*, estabelecida no meio MS/2, após 90 dias de inoculação..... 64

CAPÍTULO 3

- Figura 1 - Perfis espectrais das malhas utilizadas no experimento com plantas de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer. 77
- Figura 2 - Plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob diferentes tipos de malhas fotoseletivas e pleno sol, após 300 dias de cultivo. 85
- Figura 3 - *Stachytarpheta sellowiana*: Eletromicrografia de Varredura da face adaxial e abaxial das folhas..... 91
- Figura 4 - Gráfico de *scores* e *loadings* da análise de componentes principais (PCA), na construção de correlação matricial, usando dados de Peso Seco de Folha (PSF); Peso Seco de Raiz (PSR); Peso Seco do Caule (PSC) Peso Seco Total (PST); Flavonoides, Fenóis, Teor de Iridoides, Carotenoides, Clorofila Total;

Número de Tricomas Totais (NT_{totais}) e a Área Foliar Total (AFT) de *Stachytarpheta sellowiana* cultivada sob malhas coloridas e pleno sol.97

CAPÍTULO 4

Figura 1 - Cortes das folhas de <i>Stachytarpheta sellowiana</i> , para a fixação em Karnovsky.....	114
Figura 2 - Hábito da planta <i>Stachytarpheta sellowiana</i> , em estágio de floração, na Serra do Campestre, Lavras, MG.....	117
Figura 3 - <i>Stachytarpheta sellowiana</i> : Eletromicrografia de Varredura de folhas advindas do Cerrado.	118
Figura 4 - <i>Stachytarpheta sellowiana</i> : Eletromicrografia de Varredura, de folhas advindas do Campo Rupestre.	119
Figura 5 - <i>Stachytarpheta sellowiana</i> : microscopia de luz óptica de folhas.	123

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	14
1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Aspectos botânicos e agronômicos do gênero <i>Stachytarpheta</i>.....	16
2.2	Fitoquímica e atividades biológicas de plantas do gênero <i>Stachytarpheta</i>.....	16
2.3	Aspectos botânicos de <i>Stachytarpheta sellowiana</i> Schauer.....	24
2.4	Propagação de Plantas	26
2.4.1	Estaquia	26
2.4.2	Cultivo <i>in vitro</i>	27
2.4.3	Sementes	28
2.5	Radiação	29
2.6	Anatomia Vegetal.....	30
	REFERÊNCIAS.....	32
	CAPÍTULO 2 PROPAGAÇÃO SEXUADA E ASSEXUADA <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> DE <i>Stachytarpheta sellowiana</i> SCHAUER	41
1	INTRODUÇÃO.....	44
2	MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1	Localização experimental.....	47
2.2	Germinação de sementes	47
2.2.1	Germinação <i>in vitro</i> sob diferentes intensidades e qualidades luminosas	47
2.2.2	Delineamento experimental	47
2.2.3	Variáveis analisadas	48
2.3	Germinação em Gerbox de dois lotes de sementes	48
2.3.1	Localização experimental.....	48
2.3.2	Condução do experimento	48
2.3.3	Delineamento experimental	48
2.3.4	Variáveis analisadas	49
2.3.5	Análise estatística.....	49
2.4	Enraizamento de estacas	49
2.5	Delineamento experimental	50
2.6	Variáveis analisadas	50
2.7	Análise estatística.....	51
2.8	Estabelecimento <i>in vitro</i>	51
2.9	Microscopia eletrônica de varredura - MEV	52
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	53
3.1	Germinação das sementes <i>in vitro</i> sob diferentes intensidades e qualidades luminosas	53
3.2	Germinação de sementes em gerbox	55
3.3	Enraizamento de estacas apicais e nodais em diferentes tipos de substratos.....	57
3.4	Estabelecimento <i>in vitro</i>	63
4	CONCLUSÃO.....	65
	REFERÊNCIAS.....	66
	CAPÍTULO 3 DIFERENTES ESPECTROS LUMINOSOS AFETAM CRESCIMENTO, ANATOMIA, TEOR DE MATABÓLITOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE <i>Stachytarpheta sellowiana</i> Schauer, PLANTA MEDICINAL AMEAÇADA DE EXTINÇÃO	71

1	INTRODUÇÃO.....	74
2	MATERIAIS E MÉTODOS	76
2.1	Crescimento vegetativo	76
2.2	Análise de pigmentos fotossintéticos	78
2.3	Teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidante	79
2.3.1	Preparo do extrato e condições gerais	79
2.3.2	Fenóis totais	79
2.3.3	Flavonoides totais.....	80
2.3.4	Capacidade antioxidante total (CAT)	80
2.3.5	Atividade de eliminação de radicais livres (DPPH).....	81
2.3.6	Capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC).....	81
2.4	Quantificação de iridoides totais	82
2.4.1	Preparo da amostra	82
2.4.2	Reação de coloração e leitura das absorbâncias	82
2.5	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	83
2.6	Análise estatística.....	83
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	84
3.1	Crescimento vegetativo	84
3.2	Pigmentos fotossintéticos.....	89
3.3	Microscopia Eletrônica de Varredura	90
3.4	Teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidante.....	93
3.5	Análise dos componentes principais (PCA).....	96
4	CONCLUSÃO	98
	REFERÊNCIAS.....	99
	CAPÍTULO 4 CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DE <i>Stachytarpheta sellowiana</i> OCORRENTE EM CERRADO E CAMPO RUPESTRE	108
1	INTRODUÇÃO.....	111
2	MATERIAL E MÉTODOS	113
2.1	Coleta do material vegetal.....	113
2.2	Preparação das amostras para a visualização em MEV (Microscopia eletrônica de varredura).....	113
2.2.1	Delineamento experimental e variáveis analisadas, microscopia eletrônica de varredura	114
2.3	Preparação das amostras para a visualização em microscopia óptica	115
2.3.1	Clarificação, coloração e montagem das lâminas	115
2.3.2	Delineamento experimental e variáveis analisadas em microscopia óptica	115
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	117
3.1	Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV	117
3.2	Microscopia óptica	122
4	CONCLUSÃO	127
	REFERÊNCIAS.....	128
	ANEXO A – ANÁLISE DE SOLO.....	131
	ANEXO B – EXSICATA DA ESPÉCIE.....	132

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

A família Verbenaceae é composta por 40 gêneros e aproximadamente 1.200 espécies as quais são distribuídas, em todo o mundo, principalmente em regiões tropicais, sendo encontradas na natureza, em diferentes portes, como árvores, arbustos e herbáceas, apresentando flores em sua grande maioria. Esta família está presente em praticamente todos os ecossistemas terrestres, sendo uma das cinco mais importantes entre as eudicotiledôneas dos campos rupestres (PIMENTA *et al.*, 2007).

Pertencente à família das Verbenaceas, há o gênero *Stachytarpheta* Vahl em que já se encontraram diversos estudos comprovados de seu potencial medicinal. Entre seus usos, têm-se estudos, para tratamento de dor de cabeça, disenteria, infecções oculares, distúrbios gástricos e intestinais, anti-inflamatório, antinociceptivo, diabetes, hipertensão, infecções bacterianas, antimalárica, purgativo, vermífugo, expectorante, eentre outros. Suas ações biológicas estão relacionadas com sua composição química (ATAMAN *et al.*, 2006; FROELICH *et al.*, 2008; LUCA; GUIISO; MARTINO, 1983; SCHAPOVAL, 1998; VELA *et al.*, 1997; VICCINI *et al.*, 2008).

Neste gênero encontramos a *Stachytarpheta sellowiana* Schauer, uma espécie ameaçada de extinção, nativa do Brasil, endêmica do cerrado mineiro, com escassos estudos fitoquímicos, biológico e de cultivo (FLORA DO BRASIL, 2018; INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES - IUCN, 2017). Conforme citado anteriormente, dados reportados na literatura indicaram diversas propriedades farmacológicas das espécies do gênero *Stachytarpheta*, o que sugere o potencial medicinal de *S. sellowiana*.

Stachytarpheta sellowiana, sendo uma espécie que corre risco de extinção, carece de desenvolvimento de protocolos, para a propagação, sendo essenciais à multiplicação e preservação da espécie, para suportar estudos futuros e, dessa forma, evitar o extrativismo vegetal da espécie. Ademais, estudos anatômicos também são relevantes, por meio dos quais pode-se avaliar o comportamento da espécie e possibilitam a caracterização farmacobotânica da espécie.

Neste contexto, este trabalho objetivou estabelecer a melhor forma de propagação da espécie, realizar estudos sobre a anatomia foliar de *S. sellowiana* oriunda de dois ambientes

naturais e avaliar o efeito de malhas coloridas no crescimento vegetativo e produção de metabólitos secundários da espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos botânicos e agronômicos do gênero *Stachytarpheta*

As plantas da família Verbenaceae são bastante conhecidas pelos seus usos na medicina tradicional de muitos países, e várias plantas desta família apresentam relatos de possuírem compostos fitoquímicos bioativos com importantes efeitos farmacológicos (RAHMATULLAH *et al.*, 2011).

Dentro da família Verbenaceae, encontramos o gênero *Stachytarpheta*, que possui 130 espécies (ATKINS, 2005). No Brasil encontram-se 79 espécies do gênero, sendo 73 endêmicas, representando um importante centro de biodiversidade (SALIMENA, 2015). Na Cadeia do Espinhaço, ocorre mais da metade das espécies brasileiras (44 spp.), 30 de ocorrência em Minas Gerais, sendo 23 endêmicas (ATKINS, 2005). A maioria das espécies são arbustos ou subarbustos ramificados, com 0,5-1,5 m de altura, embora algumas espécies possam alcançar até 4,0 m. Suas flores são dispostas de forma espiralada, ao longo do eixo da inflorescência, de maneira compacta. Apresentam corolas bastante vistosas e facilmente localizadas a distância no campo, comumente azuis, mas podem apresentar várias colorações dependendo da espécie, como vermelhas, lilases, laranjas, brancas ou negras (ATKINS, 2005; SALIMENA-PIRES; GIULIETTI, 1998).

As aplicações medicinais dentro do gênero *Stachytarpheta* são amplas e dependem da espécie. Suas ações biológicas estão relacionadas com sua composição química e já foram identificados compostos e classes de compostos como: 6 β -hidroxipolamida, iridoide ipolamida, verbascosídeo, flavonoides, aminas, esteroides, taninos, glicosídeos cardiotônicos, carboidratos, alcaloides, saponinas, entre outros (ATAMAN *et al.*, 2006; FROELICH *et al.*, 2008; LUCA; GUIISO; MARTINO, 1983; SCHAPOVAL *et al.*, 1998; VELA *et al.*, 1997; VICCINI *et al.*, 2008).

2.2 Fitoquímica e atividades biológicas de plantas do gênero *Stachytarpheta*

Estudos químico-biológicos revelaram os potenciais medicinais de diferentes extratos ou óleo essencial obtidos a partir de plantas do gênero *Stachytarpheta*. Pesquisas com o gênero evidenciaram amplos efeitos farmacológicos, tais como: atividade hipoglicêmica, antioxidante, efeito imunossupressor, inibição da contração uterina, atividade contra parasitas do gênero *Plasmodium*, entre outros (AMAECHINA; BAFOR, 2016; CHINWUDE; ACHUNIKE;

OGBONNAYA, 2016; ROZIANOOR; EIZZATIE; SAMSULRIZAL, 2014; VIKASARI *et al.*, 2015).

A parte da planta estudada, o tipo de extrato e o líquido extrator influenciam na composição química e no efeito biológico da planta. A descrição de diversas condições extrativas, composição química principal e atividades biológicas de plantas do gênero *Stachytarpheta*, descritas na literatura, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Estudos fitoquímicos e de atividades biológicas do gênero *Stachytarpheta*. (continua)

Planta	Parte estudada	Extrato	Método extrativo	Composição química principal	Atividade biológica	Referências
<i>Stachytarpheta mutabilis</i> Vahl	Planta toda	Etanólico	Percolação	6 β -Hidroxioplamida	NC	(DE LUCA <i>et al.</i> , 1983)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i> (L) Vahl	Folhas	Hidroetanólico (95%)	Maceração a frio	Ipolamida (iridoide) e o verbascosídeo (glicosídeo fenilpropanoide)	Redução da atividade motora e reação de alarme, ataxia, sedação, analgésico, anestésico, e redução da temperatura do corpo	(RODRÍGUEZ; CASTRO, 1996)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i> Vahl	Planta toda	Aquoso	Infusão	Flavonoides e aminas	Inibição da secreção gástrica	(VELA <i>et al.</i> , 1997)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Folhas secas	Alcoólicos e n-butanólicos	Infusão e decocção	Iridoide ipolamida e verbacosídeo (glicosídeo feniletanóide)	Propriedades anti-inflamatórias e antinociceptiva	(SCHAPOVAL <i>et al.</i> , 1998)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folhas e botões florais	Aquoso	Decocção	NC	Efeito depressivo geral sobre o sistema nervoso central, possível efeito sedante tranquilizante.	(GARCÍA-GONZÁLEZ <i>et al.</i> , 2002)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folhas secas	Extratos de acetato de etila e de n-hexano	Percolação	NC	Efeitos antioxidantes a partir do extrato de acetato de etila.	(ALVAREZ <i>et al.</i> , 2004)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Planta toda	Aquosos	Infusão	NC	Efeito analgésico, laxante suave e potente inibição das atividades de secreção gástrica.	(MESIA-VELA <i>et al.</i> , 2004)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folhas	Folha triturada	NC	NC	Toxicidade sistêmica leve não dependente da dose em alguns tecidos específicos.	(ATAMAN <i>et al.</i> , 2006)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folhas	Aquoso	Soxhlet	NC	Efeito hipotensivo agudo	(IDU <i>et al.</i> , 2006)
<i>Stachytarpheta indica</i> Vahl	Toda planta	Aquoso	NC	flavonoides, esteroides, taninos, glicosídeos cardiotônicos, carboidratos, alcaloides, saponinas	Efeito analgésico e anti-inflamatório concentração-dependente.	(OTIMENYIN <i>et al.</i> , 2006)

Tabela 1 - Estudos fitoquímicos e de atividades biológicas do gênero *Stachytarpheta*. (continuação)

Planta	Parte estudada	Extrato	Método extrativo	Composição química principal	Atividade biológica	Referências
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Parte aérea	Etanólicos	Maceração dinâmica	ipolamida e verbascosídeo	Evidências das propriedades anti-inflamatórias e gastroprotetoras	(PENIDO <i>et al.</i> , 2006)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Folhas	Aquoso, metanólico e frações (acetato de etila, n-butanol e água)	Maceração	6 β -hidroxi-ipolamida, ipolamida e isoverbacosídeo	Redução da hiperglicemia, estimulação da liberação direta de insulina.	(ADEBAJO <i>et al.</i> , 2007)
<i>Stachytarpheta angustifolia</i> (Mill) Vahl	NC	Aquoso	NC	NC	Redução da glicose sanguínea em ratos normais e diabéticos. (tratamento de diabetes tipo 2)	(ISAH <i>et al.</i> , 2007)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Folhas secas	Hidroalcoólico (70%)	Maceração	NC	Efeito leishmanicida dose e espécie-dependente.	(MOREIRA <i>et al.</i> , 2007)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i> .	Folhas	Metanólico	Soxhlet	NC	Atividade antidiarréica.	(SASIDHARAN <i>et al.</i> , 2007)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Saquinhos de chá	Aquoso	Infusão	NC	Efeito hipocolesterolemico.	(CHIGOZIE <i>et al.</i> , 2008)
<i>Stachytarpheta angustifolia</i>	Planta inteira seca	Hidroetanólico (80%)	Maceração	Triterpenoides saponinas (majoritário), antraquinonas, polifenóis, alcaloides.	Atividade antibacteriana contra <i>S. aureus</i> , <i>S. disenteriae</i> , e coagulase-negativa para <i>Staphylococcus</i> e <i>Proteus mirabilis</i> .	(ENWURU <i>et al.</i> , 2008)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Planta inteira	Metanol e frações (éter de petróleo, diclorometano e acetato de etila.	NC	Feniletanóides: isoacteosídeo, acteosídeo, leucosceptosídeo, martinósídeo, jinosídeo D.	NC	(FROELICH <i>et al.</i> , 2008)

Tabela 1 - Estudos fitoquímicos e de atividades biológicas do gênero *Stachytarpheta*. (continuação)

Planta	Parte estudada	Extrato	Método extrativo	Composição química principal	Atividade biológica	Referências
<i>Stachytarpheta glabra</i> Cham	Folhas	Óleo essencial e etanólico	Hidrodestilação por Clevenger e Soxhlet	Acetosido de glicosídeos e ipolamiida de iridoídes no extrato e feniletanóides e o e 4-metoxicarbonil-7-metilciclopenta[c]pirano (fulvoipolamiida) no óleo essencial.	NC	(VICCINI <i>et al.</i> , 2008)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Saquinhos de chá	Aquoso	Infusão	NC	Decréscimo na concentração plasmática de sódio e acréscimo na concentração plasmática de potássio. Os resultados apoiam o uso do chá no tratamento de condições edematosas e hipertensão arterial.	(IKEWUCHI <i>et al.</i> , 2009)
<i>Stachytarpheta angustifolia</i>	Planta toda seca	Hidroetanólico (80%)	Maceração	Triterpenoides saponinas (majoritário), antraquinonas, polifenóis, alcaloides.	Atividade antidiabética. O extrato não produziu efeito tóxico, em doses baixas e moderadas, mas pode causar danos nos rins em doses mais elevadas.	(OGBONNIA <i>et al.</i> , 2009)
<i>Stachytarpheta indica</i>	Planta toda	Etanólico	Soxhlet	NC	Efeito anti-hiperglicêmico.	(SILAMBUJANAKI <i>et al.</i> , 2009)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folhas	Hidroetanólico (80%)	Maceração	NC	Atividades antinociceptivas e anti-inflamatórias	(SULAIMAN <i>et al.</i> , 2009)
<i>Stachytarpheta angustifolia</i>	Folha	Hidroetanólico (80%)	Maceração	NC	Efeito antioxidante e imunomodulador. A planta pode ser um alimento nutracêutico.	(AWAH <i>et al.</i> , 2010)

Tabela 1 - Estudos fitoquímicos e de atividades biológicas do gênero *Stachytarpheta*. (continuação)

Planta	Parte estudada	Extrato	Método extrativo	Composição química principal	Atividade biológica	Referências
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Raízes	Etanólico, partições e os compostos majoritários isolados	Soxhlet	verbascosídeo e ácido betulínico	Foram observadas atividades antioxidante e antimicrobiana. O extrato etanólico e as partições testadas não apresentaram fototoxicidade.	(DE SOUZA <i>et al.</i> , 2010)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Folhas	Metanólico e frações n-hexano, acetato de etila e metanol	Maceração a frio	Saponinas (majoritário), carboidratos, flavonoides e terpenoides.	Efeitos antibacterianos e antiespasmódicos.	(OKOYE <i>et al.</i> , 2010)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Raíz	Etanólico e frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol	Soxhlet	Verbascosídeo, martinósídeo e ácido betunílico	Alto poder antioxidante dependente da dose.	(DE SOUZA <i>et al.</i> , 2011)
<i>Stachytarpheta gesnerioides</i> Cham	Folhas	Aquoso, etanólico, etil acetato, metanol, hexânico e óleo essencial	Maceração mecânica e hidrodestilação por Clevenger	α -pinene, β -pinene, 1-octen-3-ol, 3-octanol, isocarofileno, biciclogermacreno, β -sesquifelandreno, espatulenol, óxido cariofileno, guaiol, no óleo essencial. Fenóis e flavonoides em todas as frações do extrato.	Efeitos antioxidantes e antimicrobianos.	(SILVA <i>et al.</i> , 2012)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Folhas	Metanólico e frações de acetato de etila, butanol e água.	Maceração	NC	Efeito sedativo e ansiolítico.	(OLAYIWOLA <i>et al.</i> , 2013)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folhas	Hidroalcólico (70%)	Soxhlet	Flavonoides, Glicosídeos, Saponinas, Proteínas, Esteroides, e Terpenos.	Cicatrização de feridas em ratos diabéticos.	(PANDIAN <i>et al.</i> , 2013)
<i>Stachytarpheta indica</i>	Parte aérea	Aquoso, clorofórmico e etanólico	Soxhlet	Alcaloides, flavonoides, glicosídeos, esteroides, taninos, carboidratos e saponina.	Atividade antimicrobiana, comparável com a estreptomicina antibiótico padrão.	(PRINCELY <i>et al.</i> , 2013)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Folhas	Metanólico	Maceração a frio	NC	Ação imunoestimuladora.	(OKOYE <i>et al.</i> , 2014)

Tabela 1 - Estudos fitoquímicos e de atividades biológicas do gênero *Stachytarpheta*. (continuação)

Planta	Parte estudada	Extrato	Método extrativo	Composição química principal	Atividade biológica	Referências
<i>Stachytarpheta urticifolia</i> (Salisb) Sims	Raiz, caule, folha e inflorescência	Metanólico, acetato de etila e hexânico	Soxhlet	NC	Atividade antimicrobiana.	(SREELATHA <i>et al.</i> , 2014)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folhas	Extrato etanólico 70%	Maceração	Genipina, ácido palmítico, ácido tridecanoico, fitol ácido linoleico, ester metil.	Atividade hipoglicêmica e antioxidante.	(ROZIANOOR <i>et al.</i> , 2014)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Planta toda	Aquoso	NC	Alcaloides, saponinas, flavonoides, esteroides, e terpenoides.	Efeito imunossupressor.	(VIKASARI <i>et al.</i> , 2015)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folha	Metanólico	Maceração a frio	NC	Inibe a contração uterina.	(AMAECHINA Bafor, 2016)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Folha	Hexânico, diclorometano e metanólico	NC	NC	Atividade contra parasitas do gênero <i>Plasmodium</i> .	(CHINWUDE; ACHUNIKE; OGBONNAYA, 2016)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Planta toda	NC	NC	Verbascosídeo	Efeito antimicrobiano e antifúngico	(LIEW <i>et al.</i> , 2016)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Folhas	Extrato aquoso subfrações n-butanol	NC	verbascosideo e isoverbascosideo	Efeito anti leishimania	(MAQUIAVELI <i>et al.</i> , 2016)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	NC	Etanol	NC	NC	Efeito alelopático em sementes de <i>Cucumis sativus</i> .	(KREMER <i>et al.</i> , 2019)
<i>Stachytarpheta angustifolia</i>	Folha e planta toda	Éter de petróleo e etanol	Extração exaustiva	Carboidratos, taninos, saponinas, glicosídeo cardíaco, esteróis e terpenoides	Alívio de distúrbios gastrointestinais em coelhos.	(MOHAMMED <i>et al.</i> , 2019)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folha	Água	Maceração dinâmica por 1h	NC	Atividade antibacteriana em bactéria gram-positivas.	(KHAN, 2020)
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Folhas	Metanol e água 1:1	Maceração estática por 48h.	NC	Toxicidade para os órgãos vitais dos ratos.	(OLAYODE; DANIYAN; OLAYIWOLA, 2020)

Tabela 1 - Estudos fitoquímicos e de atividades biológicas do gênero *Stachytarpheta*. (conclusão)

Planta	Parte estudada	Extrato	Método extrativo	Composição química principal	Atividade biológica	Referências
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Partes aéreas	Metanol	NC	Flavonoides	Efeitos profiláticos contra úlcera gástrica em ratos, além de efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes.	(ESKANDER <i>et al.</i> , 2021)
<i>Stachytarpheta angustifolia</i>	Folhas	Etanol	Extração via soxhlet	NC	Capacidade antioxidante.	(LARYEA; SHERINGHAM BORQUAYE, 2021)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Folhas	acetona, água, metanol e extrato de éter de petróleo	Extração por Soxhlet	Ciclopropano, fenil-acetonitrila, piranona, tetradecene, neofitadieno, inositol, monocrotalina e escaleno.	Extrato de acetona apresentou efeito inibidor de crescimento em larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> .	(PK; PUTHUR, 2021)
<i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	Planta seca	Água destilada	Decocção	Alcaloide, saponina, esteroides, terpenoides, flavonoides, quinonas, polifenóis, taninos	Afetou o sistema imunológico humoral e celular de ratos.	(VIKASARI <i>et al.</i> , 2021)

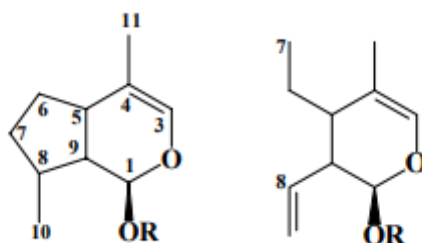
Fonte: Da autora (2021).

NC: Não consta*

As espécies estudadas apresentam composição fitoquímica de interesse e, portanto são plantas com elevada potencialidade, para o uso medicinal, sendo necessárias pesquisas para abranger o grande número de espécies dentro deste gênero.

Por meio desses estudos, verificamos a possibilidade de um marcador químico para a espécie *Stachytarpheta sellowiana*, um iridoide. Eles são compostos monoterprenoídeos, que possuem um esqueleto iridano (FIGURA 1), ou seja, possuem uma característica estrutural ciclopentapiranoídica e são distribuídos em diversos grupos de plantas como compostos do metabolismo secundário (WANG *et al.*, 2020).

Figura 1 - Sistema iridano para compostos iridoides. R = H ou glicose.



Fonte: Sampaio-Santos e Kaplan (2001).

No gênero *Stachytarpheta*, o composto iridoide ipolamiida foi reportado, em várias espécies, incluindo *S. jamaicensis* (RODRÍGUEZ; CASTRO, 1996), *S. cayennensis* (FUTURO; KAPLAN, 1998; SCHAPOVAL *et al.*, 1998), *S. indica* (GANAPATY *et al.*, 1998; ROENGSUMRAN *et al.*, 2002), *S. australis* (AKISUE *et al.*, 1981), *S. guyanensis* (GARNER, 1997) e *S. mutabilis* (LUCA, 1980).

2.3 Aspectos botânicos de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer

Stachytarpheta sellowiana Schauer é uma planta nativa e endêmica do Brasil e encontra-se em ameaça de extinção (INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES - IUCN, 2018). É principalmente encontrada na região Sudeste, mais especificamente em Minas Gerais. Seu domínio fitogeográfico é o cerrado e vegetação do tipo Campo Rupestre que é uma vegetação campestre que ocorre, em áreas montanhosas, basicamente, acima de 900 m de altitude, ocupando principalmente trechos de solos litólicos associados a afloramentos de quartzito, arenito ou minérios de ferro e manganês. Associa-se, sobretudo, aos domínios do Cerrado e da Caatinga (IUCN, 2018).

A grande maioria das espécies de *Stachytarpheta* de campo rupestre, encontradas no Brasil, são limitadas a localidades específicas. Além disso, existem poucos trabalhos a respeito de sua polinização e produção de sementes. Das 35 espécies, descritas por Schauer para Martius *in* Flora Brasiliensis, em 1851, poucas foram coletadas. A espécie *Stachytarpheta sellowiana* Schauer foi encontrada em apenas uma localidade, confirmando sua raridade (ATKINS; ALVES; KOLBECK, 1996).

As plantas do gênero são bastante conhecidas como plantas invasoras de solos cultivados, fato que oculta que o gênero contenha algumas espécies dignas de cultivo com consideráveis méritos ornamentais. Muitas plantas têm suas flores roxas ou azuis e são arbustos ou semiarbustos, fatores que favorecem seu uso na ornamentação (ATKINS; ALVES; KOLBECK, 1996).

Quanto a suas características botânicas descritas, é considerada subarbusto, com média de 0,6 m de altura, ramificada, com ramos cilíndricos. Suas folhas são sésseis, com lâmina de 2-5 × 1-2 cm, coriáceas, obovada, com ápice obtuso, margem serrilhada, base atenuada, face adaxial e abaxial densamente cobertas por tricomas simples e glandulares. Sua inflorescência é robusta, congesta, em espigas terminais, possuem 4-6 floras anuais, medindo de 3-6 cm, com brácteas verdes. Apresenta corola infundibuliforme de cor azul escuro, com tubo ligeiramente curvo. Possui dois estames, inseridos na metade do tubo da corola (FIGURA 2) (CRUZ; SALIMENA, 2017).

Figura 2 - Hábito da planta *Stachytarpheta sellowiana* cultivada em canteiro, no Horto de Plantas Medicinais, UFLA, em estágio de floração.



Fonte: Da autora (2018).

2.4 Propagação de Plantas

2.4.1 Estaquia

Entre as formas de multiplicação de plantas de forma assexuada, temos a vegetativa por meio de estacas, que é uma das técnicas de propagação mais utilizadas. Essa é considerada uma alternativa propícia à produção de mudas, pois, além de ter baixo custo, garante a qualidade genética das espécies, além da redução da fase juvenil da planta, diminuindo o tempo de reprodução das espécies (GOMES; DIONES, 2020). Além disso, a técnica possibilita homogeneidade e conseqüentemente mudas bem formadas (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Vários fatores podem influenciar no sucesso ou não da propagação, e um desses elementos é o tipo de estaca (SILVA, 2015). De acordo com Pacheco e Franco (2008), pode haver uma variação na composição química do tecido da planta, de acordo com a parte do ramo. Sendo assim, estacas de diferentes segmentos tendem a diferir quanto ao seu potencial de enraizamento.

Oliveira *et al.* (2008), em seu trabalho de reprodução de *Lippia sidoides* Cham, testaram o enraizamento de diferentes tipos de estacas, cujos segmentos apicais, foram os mais responsivos. E Pimenta *et al.* (2007) concluíram que o enraizamento de estacas de espécies não domesticadas de *Lippia* (Verbenaceae) foi muito baixo, além de variar em resposta à época de coleta das estacas e quanto ao tipo e à concentração das auxinas utilizadas. Esses resultados comprovam a importância de se testar o melhor tipo de estaca para a reprodução vegetativa das espécies.

Outro fator que interfere diretamente no pegamento das mudas é o tipo de substrato. Gomes *et al.* (2015) afirmaram que as características químicas e físicas dos substratos são elementos que também têm alto poder de influência no enraizamento e na sobrevivência das mudas. Lacerda *et al.* (2006) declaram que o substrato ideal deve suportar seguramente a fixação das estacas, ser poroso o suficiente, para a expansão do sistema radicular, além de ser capaz de disponibilizar os nutrientes essenciais para o desenvolvimento vegetativo.

Com isso, vê-se a importância de se testar a influência do tipo de estaca e substrato, a fim de produzir mudas mais vigorosas. Um sistema radicular mais vigoroso, uniforme e volumoso irá refletir positivamente na sobrevivência bem como no desempenho da planta no campo (ALCANTARA *et al.*, 2007). Ademais, *Stachytarpheta sellowiana*, por ser uma espécie em risco de extinção, com potencial medicinal, necessita de estudos agronômicos que desenvolvam protocolos eficientes de propagação, a fim de evitar a erosão genética da espécie (IUCN, 2017).

2.4.2 Cultivo *in vitro*

Existe uma grande preocupação com o extrativismo vegetal, pois essa prática, no habitat natural de forma desordenada, tanto para fins de comercialização quanto para estudos, quando realizado em excesso, pode ocasionar danos à biodiversidade. Portanto torna-se de extrema importância o desenvolvimento de técnicas de cultivo, a para sua exploração sustentável, bem como para a conservação do germoplasma. Nesse aspecto, a micropropagação de plantas pode ser considerada uma técnica viável, pois, a partir de uma planta matriz, pode-se propagar a espécie *in vitro* em larga escala (MARCO-MEDINA; LAS CASAS, 2015; SANTORO *et al.*, 2013).

Na propagação *in vitro*, o explante é isolado da planta matriz e cultivado sob condições assépticas, em um meio de cultivo artificial. Já a micropropagação é uma técnica de cultura de tecidos muito utilizada, em plantas medicinais, principalmente, quando é relacionada com a

produção de metabólitos secundários (SIAHSAR *et al.*, 2011). O princípio básico dessa técnica é a totipotencialidade celular, na qual uma célula do organismo vegetal contém todas as informações necessárias para regenerar uma planta completa (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Com a micropropagação torna-se possível uma produção uniforme e anual das plântulas. Desta forma, leva as condições físicas e químicas o mais próximo do ideal, potencializando o desenvolvimento da espécie no microambiente.

Rajender *et al.* (2012) estabeleceram um protocolo de micropropagação de *Stachytarpheta jamaicensis*, a partir de explantes nodais, cultivados em meio MS. Os autores iniciaram o cultivo com diferentes concentrações da citocininas BAP (6-benzilaminopurina) e CIN (cinetina) e conseguiram bons resultados com BAP 0,5 mg.L⁻¹ e CIN 1,0 mg.L⁻¹. Logo após, reproduziram os explantes em meio MS com diferentes concentrações de IBA (ácido indolbutírico) e GA₃ (giberelina). Com isso, concluíram que o meio com a dosagem de 0,5 mg/L de IBA e BAP promoveu 84% de enraizamento e 75% de sobrevivência após a aclimatização.

Sendo este trabalho um dos poucos sobre cultivo *in vitro* dentro do gênero *Stachytarpheta*, justifica-se a aplicação de estudos e respeito da micropropagação da *S. sellowiana*. Além de inédito, permite a obtenção de um grande número de plantas, em um pequeno espaço, fornecendo alternativas para a preservação da espécie.

2.4.3 Sementes

Como forma de reprodução sexuada das plantas, tem-se a propagação por sementes, entretanto essa técnica dispõe de alta variabilidade e baixa uniformidade para as plantas (FALEIRO *et al.*, 2019; GRATTAPLAGIA *et al.*, 1991). Entre os elementos essenciais ao sucesso da germinação, encontra-se a temperatura, a luz, a disponibilidade de água e oxigênio. Em relação a luz, verifica-se que algumas espécies necessitam de altas intensidades luminosas, enquanto outras, ausência total de luz, nesse caso, a luz pode ser um agente opositor ou então ajudar na germinação das sementes (NASSIF; VIEIRA; FERNANDES, 2004).

Além da luz, a temperatura é outro agente impactante no processo germinativo. Ela pode afetar os processos bioquímicos responsáveis por reger todo o processo de germinação. Sendo assim, é necessário definir uma faixa de temperatura máxima, a fim de viabilizar o processo (NASSIF; VIEIRA; FERNANDES, 2004).

Testes de germinação com 13 espécies de *Stachytarphetas* expressaram baixa germinabilidade sob temperaturas constantes, na presença de luz, sendo a alternância de

temperatura (15/30°C) o fator que aumentou significativamente a germinabilidade de *Stachytarpheta* sp., *S. confertifolia*, *S. glabra* e *S. sellowiana* e inibiu a germinação de *S. cayennensis* em relação à germinação sob temperaturas constantes (SANTOS, 2008).

É válido destacar a importância dos estudos que buscam reconhecer os aspectos e fatores que afetam negativamente a germinação de sementes, tais como causas ambientais, genéticas, danos morfológicos e fisiológicos, como dormência, maturidade, vigor, entre outros (PÁDUA *et al.*, 2011). Quando a plântula ainda está no estágio de embrião, dentro da semente, encontra-se na fase mais sensível do desenvolvimento, e o sucesso na etapa de germinação, mesmo sob condições adversas, resulta em uma menor mortalidade (DAVIES JÚNIOR *et al.*, 2011).

O tamanho das sementes também interfere no processo de germinação (JURADO; WESTOBY, 1992). Quando as sementes são grandes, elas possuem maior suprimento de reservas, gerando plântulas mais fortes, aumentando suas chances de estabelecimento mesmo sob condições desfavoráveis. Entretanto com as sementes pequenas acontece o oposto (MOLES; WESTOBY, 2004). Por isso, as sementes pequenas são mais exigentes quanto a condições ambientais ideais para germinarem, na tentativa de evitar a germinação em condições desfavoráveis ao seu estabelecimento (MEYER; KITCHEN, 1994).

As espécies de *Stachytarpheta*, estudadas por Santos (2008), apresentam sementes pequenas, a maioria fotoblásticas positivas, apresentando maiores germinabilidades a 25 e 30°C e sob alternância de temperaturas. Apresentaram diferenças inter e intraespecíficas, em sua germinação, comprovando a existência de diferentes padrões de germinação com diferenças quanto à dormência dentro do gênero, indicando associação da resposta germinativa encontrada com o habitat ocupado pela espécie.

2.5 Radiação

A fotossíntese das plantas é diretamente ligada à luz, que é um fator abiótico muito importante nesse processo. Além da fotossíntese, a luz interfere no crescimento e desenvolvimento, tornando-se essencial para os processos fisiológicos (MUPAMBI *et al.*, 2018; ZHOU *et al.*, 2018).

Por meio da utilização de técnicas de sombreamento em cultivos, pode-se atenuar a radiação solar emitida, permitindo, desta forma, manipular as variáveis micrometeorológicas, para que haja uma adequação climática a fim de induzir a um ótimo crescimento e aumento da produtividade (AHMED; AL-FARAJ; ABDEL-GHANY, 2016). Isso pode ser feito com o uso de malhas coloridas, ao escolher a luz em comprimento específico de onda, que vai gerar

efeitos fisiológicos distintos nas plantas (BRANT *et al.*, 2009). Portanto as malhas interferem na qualidade e quantidade de radiação transmitida, modificando o espalhamento e refletância de luz (ALVES *et al.*, 2018).

Para o sombreamento de estufas, utilizam-se malhas de diversas colorações, sendo de maior interesse econômico as cores azul e vermelha. A malha azul tem a capacidade de filtrar as ondas na faixa do vermelho e do vermelho distante e de transmitir essa luz nos comprimentos de onda da região do azul-verde (400-540 nm). Já a malha vermelha tem a menor transmitância na região do azul, verde e amarelo e maior na região do vermelho e do vermelho distante (superior a 590 nm) (SHAHAK *et al.*, 2004).

Alves *et al.* (2018) verificaram que plantas de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br (verbenaceae) apresentaram maior massa seca de folhas, sob o cultivo em malhas azuis, quando comparados os resultados sob malhas vermelhas e em pleno sol. Entretanto a massa seca de raiz apresentou maiores valores sob cultivo em pleno sol, quando comparada com as cultivadas sob malhas azuis e vermelhas. Esses resultados demonstram que as diferentes malhas coloridas interferem no crescimento das plantas. As malhas coloridas, também, interferem na produção de metabólitos secundários, como podemos observar nos trabalhos de Lima *et al.* (2019), com *Lippia alba*, os quais verificaram que a malha vermelha induziu a produção de eugenol. Portanto a utilização de malhas coloridas, para a transmissão da radiação ultravioleta, pode ser uma alternativa para aumentar a produção de metabólitos secundários em plantas medicinais (CHAGAS *et al.*, 2013; CORRÊA *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2014).

Com base nesses estudos, observa-se a importância de estudar o cultivo de plantas medicinais sob malhas, com o intuito de conhecer as respostas fisiológicas e de crescimento em diferentes emissões de radiação.

2.6 Anatomia Vegetal

Estudos a respeito das estruturas internas das plantas podem ser coadjuvantes na compreensão de inúmeros processos relacionados ao Corpo Vegetal, como também nos estudos de identificação taxonômica (MENEZES; SILVA; PINNA, 2012). Além disso, estudos morfológicos, principalmente os que abordam as estruturas internas das plantas, podem demonstrar se a espécie possui propriedades medicinais, comerciais, bem como demonstrar seus potenciais ecológicos (CARVALHO; CARNEIRO, 2021).

A anatomia das plantas pode ser influenciada por diferentes condições ambientais (LIMA, 2004). Essas alterações, em geral, são menos significativas em caules e raízes quando

comparados com as folhas. Nesse órgão, essas alterações afetam diretamente os processos metabólicos e fisiológicos das plantas, que conseqüentemente alteram os processos de fotossíntese e respiração (DEBERG; MAENE, 1984). Assim como o caule e a raiz, as folhas apresentam três conjuntos de tecidos, o sistema dérmico, que constitui a epiderme e reveste a superfície foliar; o sistema fundamental, que constitui o mesófilo da lâmina foliar e o córtex da nervura mediana e do pecíolo; e o sistema vascular que constitui os tecidos vasculares das nervuras (MENEZES; SILVA; PINNA, 2012).

A epiderme, presente no limbo foliar, pode se apresentar de maneiras diferentes, nas diferentes espécies de plantas, tanto em relação ao número de camadas (uni a multisseriada), assim como a forma das células, sua estrutura, arranjo estomático, morfologia, arranjo de tricomas, entre outras características (MENEZES; SILVA; PINNA, 2012).

Adedeji (2012), pesquisando a organização morfoanatômica das folhas de três espécies de *Stachytarpheta*, verificaram que elas são anfiestomáticas, apresentando dois tipos de tricomas, glandulares e não glandulares. Sendo os tricomas não glandulares de maior densidade numérica na superfície adaxial que na superfície abaxial, pode ser uma estratégia de proteção contra a radiação excessiva. Estudos sobre essas estruturas são ferramentas importantes, para contribuir com o entendimento do comportamento fisiológico das plantas, além de auxiliarem na correta identificação das espécies.

REFERÊNCIAS

- ADEBAJO, A. C. *et al.* Hypoglycaemic constituents of *Stachytarpheta cayennensis* leaf. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 73, n. 3, p. 241-250, Mar. 2007.
- ADEDEJI, O. Systematic significance of trichomes and foliar epidermal morphology in the species of *Stachytarpheta* Vahl. (Verbenaceae) from Nigeria. **Thaiszia Journal of Botany**, Košice, v. 22, n. 1, p. 1-31, Jan. 2012.
- AHEMED, H. A.; AL-FARAJ, A. A.; ABDEL-GHANY, A. M. Shading greenhouses to improve the microclimate, energy and water saving in hot regions: a review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 201, p. 36-45, Mar. 2016.
- AKISUE, G. *et al.* Presença de ipolamiida em *Stachytarpheta australis*. **Anais de Fármacia e Química de São Paulo**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 57-60. 1981.
- ALCANTARA, G. B. de *et al.* Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 399-404, 2007.
- ÁLVAREZ, E. *et al.* Inhibitory effects of leaf extracts of *Stachytarpheta jamaicensis* (Verbenaceae) on the respiratory burst of rat macrophages. **Phytotherapy Research**, London, v. 18, n. 6, p. 457-462, June 2004.
- ALVES, A. C. *et al.* Biomass production and essential oil of lemon balm cultivated under colored screens and nitrogen. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 94-99, jan./mar. 2018.
- AMAECHINA, F. C.; BAFOR, E. E. Bafor. In vitro inhibitory effect of methanol leaf extract of *Stachytarpheta jamaicensis* (Verbenaceae) on non-pregnant rat uterus. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, Nigéria, v. 15, n. 12, p. 2557-2562, Dec. 2016.
- ATAMAN, J. E. *et al.* Histopathologic effects of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. on Wistar rats. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 9, n. 3, p. 477-482, 2006.
- ATKINS, S. The genus *Stachytarpheta* (Verbenaceae) in Brazil. **Kew Bulletin**, London, v. 60, n. 2, p. 161-272, Jan. 2005.
- ATKINS, S.; ALVES, R.; KOLBECK, J. Plants in Peril, 23 *Stachytarpheta Sellowiana*. **Curtis's Botanical Magazine**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 33-35, Feb. 1996.
- AWAH, F. M. *et al.* Free radical scavenging activity and immunomodulatory effect of *Stachytarpheta angustifolia* leaf extract. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 4, p. 1409-1416, Apr. 2010.
- BRANT, R. da S. *et al.* Crescimento, teor e composição do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1401-1407, ago. 2009.

- CARVALHO, M. L.; CARNEIRO, C. E. Morfoanatomia foliar de uma massaranduba endêmica da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 1-6, 2021.
- CHAGAS, J. H. *et al.* Produção, teor e composição química do óleo essencial de hortelã-japonesa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 297-303, jun. 2013.
- CHIGOZIE, I. J.; ELOGHOSA, O. B.; AUGUSTA, O. The hypocholesterolemic effect of *Stachytarpheta cayennensis* tea: Implications for the management of obesity and hypertension. **Asian Journal of Biochemistry**, New York, v. 3, n. 4, p. 267-270, 2008.
- CHINWUDE, E. I.; ACHUNIKE, A. P.; OGBONNAYA, O. C. Antiplasmodial Activity and Some Active Compounds from *Stachytarpheta cayennensis* Vahl. (Verbenaceae) Leaf Fractions. **Anti-Infective Agents**, [S.l.], v. 14, n. 2, p. 132-138, 2016.
- CORRÊA, R. M. *et al.* Crescimento de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de folhas de orégano sob malhas coloridas. **Global Science and Technology**, Chichester, v. 5, p. 11-22, 2012.
- CRUZ, L. V. V.; SALIMENA, F. R. G. Verbenaceae J. St.-Hil. do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 35, p. 65-74, 2017.
- DAVIES JÚNIOR, F. T. *et al.* **Hartmann and Kester's plant propagation: principles and practices**. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.
- DEBERG, P. C.; MAENE, L. J. Pathological and physiological problems related to in vivo culture of plant. **Parasitica**, Bruxelles, v. 40, n. 2/3, p. 69-75, 1984.
- ENWURU, N. V. *et al.* Evaluation of antibacterial activity and acute toxicity of the hydroethanolic extract of *Stachytarpheta angustifolia* (Mill) Vahl. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 7, n. 11, p. 1740-1744, June 2008.
- ESKANDER, D. M. *et al.* Isolation and characterization of flavonoid compounds from *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl and its role as anti-gastro ulcerative agent in rats. **Biomarkers**, London, v. 26, n. 7, p. 606-616, Nov. 2021.
- FALEIRO, F. G. *et al.* Advances in passion fruit propagation. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 41, n. 2, p. 1-17, 2019.
- FLORA E FUNGA DO BRASIL. **Flora do Brasil 2018 em construção**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 7 maio 2022.
- FROELICH, S. *et al.* Phenylethanoid glycosides from *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, Verbenaceae, a traditional antimalarial medicinal plant. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 18, n. 4, p. 517-520, dez. 2008.

FUTURO, D. O.; KAPLAN, M. A. C. Analysis of iridoid glucosides from *Stachytarpheta cayennensis* by NMR Spectroscopy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 70, p. 755-759, 1998.

GANAPATY, S. *et al.* Phytoconstituents from the roots of *Stachytarpheta indica*. **Journal of Medicinal & Aromatic Plants Science**, Budapest, v. 20, p. 697-699, 1998.

GARCÍA-GONZÁLEZ, M. *et al.* Toxicidad subcrónica del extracto acuoso de las hojas y los brotes florales de *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. (Verbenaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, La Habana, v. 7, p. 2, May/Aug. 2002. Disponível em: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962002000200009. Acesso em: 12 abr. 2022.

GARNER, J. Chemical study of two Verbenaceae from Guyana: *Stachytarpheta guyanensis* Vahl. and *Stachytarpheta mutabilis* Vahl. **Plantas Medicinales et Phytotherapie**, Angers, v. 11, n. 4, p. 303-305, 1997.

GOMES, E. N.; DIONES, K. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas foliares e caulinares de pariparoba (*Piper umbellatum* L.). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 13, n. 2, p. 661-678, abr./jun. 2020.

GOMES, J. A. O. *et al.* Diferentes substratos na propagação por estaquia de assa-peixe (*Vernonia polyanthes* Less). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Campinas, v. 17, n. 4(supl 3), p. 1177-1181, 2015.

GRATTAPAGLIA, D. *et al.* Cultura de tecidos de maracujá. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.) **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 1991. p. 61-77.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI & Embrapa-CNPH, 1998. p. 183-260.

HARTMANN, H. T. *et al.* **Plant propagation: principles and practices**. 8. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. 915 p.

IDU, M. *et al.* Some cardiovascular effects of the aqueous extract of the leaves of *Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl. **International Journal of Pharmacology**, Faisalābād, v. 2, n. 2, p. 163-165, 2006.

IKEWUCHI, J. C.; OKARAONYE, C. C.; OGBONNAYA, E. A. Time course of the effect *Stachytarpheta jamaicensis* L.(Vahl.) on plasma sodium and potassium levels of normal rabbits. **Journal of Applied Sciences Research**, Faisalabad, v. 5, n. 10, p. 1741-1743, Oct. 2009.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES (IUCN). **The IUCN Red List of Threatened Species - Version 2017-3**. Cambridge: IUCN, 2017. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 5 dez. 2018.

ISAH, A. B. *et al.* The hypoglycaemic activity of the aqueous extract of *Stachytarpheta angustifolia* (Verbanaceae) in normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 10, n. 1, p. 137-141, Jan. 2007.

JURADO, E.; WESTOBY, M. Seedling growth in relation to seed size among species of arid Australia. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 80, n. 3, p. 407-416, Sept. 1992.

KHAN, M. M. *et al.* Antibacterial studies of ZnO and Cu-doped ZnO nanoparticles synthesized using aqueous leaf extract of *Stachytarpheta jamaicensis*. **BioNanoScience**, New York, v. 10, n. 4, p. 1037-1048, 2020.

KREMER, T. C. B. *et al.* Allelopathic influence of aqueous extract of *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl on seed germination and initial seedling growth of *cucumis sativus* L. **International Journal of Plant & Soil Science**, Gurgaon, v. 26, n. 3, p. 1-11, Jan. 2019.

LACERDA, M. R. B. *et al.* Características físicas e químicas de substratos à base de pó de coco e resíduo de sisal para produção de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 163-170, abr. 2006.

LARYEA, M. K.; SHERINGHAM BORQUAYE, L. Antimalarial, antioxidant, and toxicological evaluation of extracts of *celtis africana*, *grosseria vignei*, *physalis micrantha*, and *stachytarpheta angustifolia*. **Biochemistry Research International**, New York, v. 3, p. 1-10, June 2021.

LIEW, P. M.; YONG, Y. K. *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl: from traditional usage to pharmacological evidence. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, New York, v. 10, p. 1-7, Jan. 2016.

LIMA, E. C. **Micropropagação, calogênese e anatomia foliar de Sangra d'água (Croton urucurana Baill)**. 2004. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

LIMA, J. do C. *et al.* Content and composition of essential oil in lemon balm (*Lippia alba* (Mill) NE Br.) grown with ammonium and nitrate in light environments. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, Bogotá, v. 13, n. 1, p. 120-129, Jan./Apr. 2019.

LUCA, C. de. Isolation of ipolamiide from *Stachytarpheta mutabilis*. **Fitoterapia**, Milano, v. 51, p. 279-280, 1980.

LUCA, C. de; GUIISO, M.; MARTINO, C. 6 β -Hydroxyipolamiide, an iridoid glucoside from *Stachytarpheta mutabilis*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 1185-1187, May 1983.

MAQUIAVELI, C. do C. *et al.* *Stachytarpheta cayennensis* extract inhibits promastigote and amastigote growth in *Leishmania amazonensis* via parasite arginase inhibition. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 192, p. 108-113, Nov. 2016.

MARCO-MEDINA, A. M.; LAS CASAS, J. In vitro multiplication and essential oil composition of *Thymus moroderi* Pau ex Martinez, an endemic Spanish plant. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [Dordrecht], v. 120, n. 1, p. 99-108, Jan. 2015.

- MENEZES, N. L. de; SILVA, D. da C.; PINNA, G. F. de A. M. de. Folha. In: APEZZATO-DA-GLORIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia vegetal**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2012. 408 p.
- MESIA-VELA, S. *et al.* Pharmacological study of *Stachytarpheta cayennensis* Vahl in rodents. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 11, n.7/8, p. 616-624, Nov. 2004.
- MEYER, S. E.; KITCHEN, S. G. Habitat-correlated variation in seed germination response to chilling in Penstemon Section Glabri (Scrophulariaceae). **American Midland Naturalist**, Notre Dame, v. 32, p. 349-365, 1994.
- MOHAMMED, M. *et al.* Preliminary phytochemical screening and gastrointestinal study on the leaf extract of *stachytarpheta angustifolia* Mill Vahl (Verbenaceae) in Rabbit Jejunum. **Journal of Pharmaceutical Research International**, West Bengal, p. 1-9, Apr. 2019.
- MOLES, A. T.; WESTOBY, M. Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 92, n. 3, p. 372-383, June 2004.
- MOREIRA, R. C. R. *et al.* In vitro leishmanicidal effect of *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl (Verbenaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 59-63, Mar. 2007.
- MUPAMBI, G. *et al.* The influence of protective netting on tree physiology and fruit quality of apple: a review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 236, p. 60-72, Sept. 2018.
- NASSIF, S. M. L.; VIEIRA, I. G.; FERNANDES, G. D. Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes. **Acervo Histórico IPEF: informações técnicas**, Piracicaba, 2004. Disponível em: <http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.html>. Acesso em: 5 dez. 2018.
- OGBONNIA, S. O.; NKEMEHULE, F.; ANYIKA, E. N. Evaluation of acute and subchronic toxicity of *Stachytarpheta angustifolia* (Mill) Vahl (Fam. Verbanaceae) extract in animals. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 8, n. 9, p. 1793-1799, Apr. 2009.
- OKOYE, T. C. *et al.* Antimicrobial and antispasmodic activity of leaf extract and fractions of *Stachytarpheta cayennensis*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Haikou, v. 3, n. 3, p. 189-192, 2010.
- OKOYE, T. C. *et al.* Immunomodulatory effects of *Stachytarpheta cayennensis* leaf extract and its synergistic effect with artesunate. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 14, p. 376, Oct. 2014.
- OLAYIWOLA, G.; UKPONMWAN, O.; OLAWODE, D. Sedative and anxiolytic effects of the extracts of the leaves of *Stachytarpheta cayennensis* in mice. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines: AJTCAM/African Networks on Ethnomedicines**, Nigéria, v. 10, n. 6, p. 568-579, Oct. 2013.
- OLAYODE, O. A.; DANİYAN, M. O.; OLAYIWOLA, G. Biochemical, hematological and histopathological evaluation of the toxicity potential of the leaf extract of *Stachytarpheta*

cayennensis in rats. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, [Düzce], v. 10, n. 6, p. 544-554, Nov. 2020.

OLIVEIRA, G. L. *et al.* Enraizamento de estacas de *Lippia sidoides* Cham. utilizando diferentes tipos de estacas, substratos e concentrações do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 10, n. 4, p. 12-17, 2008.

OLIVEIRA, M. C. de *et al.* Enraizamento de estacas de oliveira submetidas à aplicação de fertilizantes orgânicos e AIB. **Ciências Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 337-344, abr. 2010.

OTIMENYIN, S. O. *et al.* Acute toxicity studies and some pharmacological properties of *Stachyphata indica*. **International Journal of Developmental Neuroscience**, Hoboken, v. 24, n. 8, p. 546-546, 2006.

PACHECO, J.P.; FRANCO, E. T. H. Ácido indolbutírico em diferentes diâmetros na estaquia de *Luehea divaricata*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1624-1629, set. 2008.

PÁDUA, J. G. *et al.* Germinação de sementes de *Passiflora setacea* e dormência induzida pelo armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 80-85, 2011.

PANDIAN, C.; SRINIVASAN, A.; PELAPOLU, I. C. Evaluation of wound healing activity of hydroalcoholic extract of leaves of *Stachytarpheta jamaicensis* in streptozotocin induced diabetic rats. **Der Pharmacia Lettre**, Uadipur, v. 5, n. 2, p. 193-200, Jan. 2013.

PENIDO, C. *et al.* Anti-inflammatory and anti-ulcerogenic properties of *Stachytarpheta cayennensis* (LC Rich) Vahl. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 104, n. 1/2, p. 225-233, Mar. 2006.

PIMENTA, M. R. *et al.* Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 211-220, abr./jun. 2007.

PK, V. R.; PUTHUR, R. K. Activation of the oxidative stress in *Culex quinquefasciatus* by the augmented production of Reactive Oxygen Species (ROS) in response to *Stachytarpheta jamaicensis* Exposure. **Journal of Communicable Diseases**, New Delhi, v. 53, n. 2, p. 43-51, 2021.

PRINCELY, S. *et al.* Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of aerial parts of *Stachytarpheta indica* L. (Vahl). **Medicinal Plants - International Journal of Phytomedicines and Related Industries**, Bhopal, v. 5, n. 2, p. 96-101, June 2013.

RAHMATULLAH, M. *et al.* Folk medicinal uses of Verbenaceae family plants in Bangladesh. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, [Ile-Ife], v. 8, p. 53-65, 2011. Supplement 5.

RAJENDER, K. *et al.* Micropropagation of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl - A medicinally important plant. **Indian Journal of Biotechnology**, New Delhi, v. 11, n. 1, p. 105-107, Jan. 2012.

RODRÍGUEZ, S. M.; CASTRO, O. Evaluación farmacológica y química de *Stachytarpheta jamaicensis* (Verbenaceae). **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 44, n. 2, p. 353-359, 1996.

ROENGSUMRAN, S. *et al.* Crystal structure of ipolamiide monohydrate from *Stachytarpheta indica*. **Analytical Sciences**, Tokio, v. 18, n. 9, p. 1063-1064, Sept. 2002.

ROZIANOOR, M. H.; EIZZATIE, Y. N.; SAMSULRIZAL, N. Hypoglycemic and antioxidant activities of *Stachytarpheta jamaicensis* ethanolic leaves extract on alloxan-induced diabetic sprague dawley rats. **Biotechnology: an indian journal**, Rajkot, v. 9, n. 10, p. 423-428, Jan. 2014.

SALIMENA, F. R. G. *Stachytarpheta* in lista de espécies da flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15189>. Acesso em: 15 mar. 2018.
SALIMENA-PIRES, F. R.; GIULIETTI, A. M. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: verbenaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 17, p. 155-186, 1998.

SAMPAIO-SANTOS, M. I.; KAPLAN, M. A. C. Biosynthesis significance of iridoids in chemosystematics. **Journal Brazilian Chemistry Society**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 144-153, abr.2001.

SANTORO, M. V. *et al.* Effects of growth regulators on biomass and the production of secondary metabolites in peppermint (*Mentha piperita*) micropropagated in vitro. **American Journal of Plant Sciences**, [Irvine], v. 4, n. 5A, p. 49-55, May 2013.

SANTOS, F. M. G. dos. **Comportamento germinativo de espécies do gênero *Stachytarpheta* Vahl. (Verbenaceae) ocorrentes nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais**. 2008. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

SASIDHARAN, S. *et al.* Antidiarrheal and antimicrobial activities of *Stachytarpheta jamaicensis* leaves. **Indian Journal of Pharmacology**, Mumbai, v. 39, n. 5, p. 245-248, 2007.

SCHAPOVAL, E. E. S. *et al.* Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 60, n. 1, p. 53-59, Feb. 1998.

SHAHAK, Y. *et al.* Colornets: crop protection and high-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 659, p. 141-161, 2004.

SIAHSAR, B. *et al.* Application of biotechnology in production of medicinal plants. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, Faisalabad, v. 11, n. 3, p. 439-444, 2011.

SILAMBUJANAKI, P. *et al.* Hypoglycemic activity of *Stachytarpheta indica* on streptozotocin induced wistar strain rats. **International Journal of PharmTech Research**, [Mumbai], v. 1, n. 4, p. 1564-1567, 2009.

SILVA, M. J. R. da. **Porta-enxertos na produção e nas características físico-químicas da uva e do vinho de diferentes cultivares em Jundiá, SP**. 2015. 100 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2015.

SILVA, P. S. *et al.* *Stachytarpheta gesnerioides* Cham.: chemical composition of hexane fraction and essential oil, antioxidant and antimicrobial activities. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, Santiago, v. 11, n. 6, p. 542-548, Nov. 2012.

SOUZA, G. S. de *et al.* Crescimento vegetativo e produção de óleo essencial de plantas de alecrim cultivadas sob telas coloridas. **Enciclopédia Biosfera**, Uberlândia, v. 30, p. 232-239, 2014. Suplemento 1.

SOUZA, P. A. de *et al.* Antioxidant activity of natural compounds of *Stachytarpheta cayennensis* by scavenger of mitochondrial reactive oxygen species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 420-426, maio/jun. 2011.

SOUZA, P. A. de *et al.* Evaluation of antimicrobial, antioxidant and phototoxic activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, Verbenaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 20, n. 6, p. 922-928, dez. 2010.

SREELATHA, R. *et al.* In vitro antimicrobial activity of different parts of *Stachytarpheta Urticifolia* (Salisb) Sims. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, Madhya Pradesh, v. 6, n. 1, p. 340-343, Nov. 2014.

SULAIMAN, M. R. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl (Verbenaceae) in experimental animal models. **Medical Principles and Practice**, Basel, v. 18, n. 4, p. 272-279, 2009.

VELA, S. M. *et al.* Inhibition of gastric acid secretion by the aqueous extract and purified extracts of *Stachytarpheta cayennensis*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 63, n. 1, p. 36-39, Feb. 1997.

VICINI, L. F. *et al.* Ipolamiide and fulvoipolarniide from *Stachytarpheta glabra* (Verbenaceae): a structural and spectroscopic characterization. **Journal of Molecular Structure**, New York, v. 875, n. 1/3, p. 27-31, 2008.

VIKASARI, S. N. *et al.* Immunomodulatory effect of water extract of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Gwalior, v. 5, p. 62-66, Jan. 2015.

VIKASARI, S. N.; WAHYUNINGSIH, S.; SUTJIATMO, A. B. Specific immunomodulatory effect of water extract of *Stachytarpheta jamaicensis* herbs. *In: IOP CONFERENCE SERIES: EARTH AND ENVIRONMENTAL SCIENCE*, 755., 2021, Indonésia. **Pocceedings** [...]. Indonésia: IOP Publishing, 2021. p. 8-13.

WANG, C. *et al.* Iridoids: research advances in their phytochemistry, biological activities, and pharmacokinetics. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 2, p. 287, Jan. 2020.

ZHOU, K. *et al.* Effects of photosensitive netting on root growth and development of young grafted orange trees under semi-arid climate. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 238, p. 272-280, May 2018.

**CAPÍTULO 2 PROPAGAÇÃO SEXUADA E ASSEXUADA *in vivo* E *in vitro* DE
Stachytarpheta sellowiana SCHAUER**

**SEXUAL AND ASEXUAL PROPAGATION *in vivo* AND *in vitro* OF *Stachytarpheta
sellowiana* SCHAUER**

RESUMO

Stachytarpheta sellowiana Schauer, conhecida vulgarmente por gervão, é endêmica da região do cerrado. Por ser uma planta selvagem e de potencial medicinal, estudos que estabeleçam métodos de propagação são necessários, para evitar a erosão genética da espécie. Objetivou-se avaliar diferentes formas de propagação de *S. sellowiana*, a fim de apontar o método mais viável. Foram avaliados três métodos de propagação: estabelecimento *in vitro*, propagação sexuada com diferentes lotes de sementes e propagação assexuada por estaquia. No estabelecimento *in vitro*, testaram-se quatro tipos diferentes de meio: MS, suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose; MS com metade da concentração de sais e com 15 g L⁻¹ de sacarose; WPM e B5. O meio mais adequado foi o MS com metade dos sais e sacarose e pH 4,4, embora tenha alcançado uma baixa taxa de sobrevivência (32%) dos explantes. Nessas condições de cultivo, verificou-se que as bactérias não se desenvolveram, e as plântulas tiveram uma taxa de sobrevivência de 80%. Para os testes de germinação, foram utilizados lotes de sementes coletadas no habitat natural de plantas cultivadas em casa de vegetação e em canteiros. As sementes de cada lote foram germinadas em dois tipos de substratos (terra e areia na proporção 2:1 e papel mataborrão). Para isso, foram utilizadas 100 sementes por tratamento, com quatro repetições, contendo 25 sementes por repetição (gerbox). Para o teste de intensidade luminosa, foram utilizadas cinco intensidades de luz LED (26; 70; 100; 113; 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e sete espectros de luzes (vermelha; azul; verde; branca; 70% vermelha:30% azul; 50% vermelha:50% azul; 30% vermelha:70% azul). Delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado (DIC), com seis repetições, num total de 11 tratamentos, contendo 12 tubos por repetição. Maior taxa de germinação foi encontrada nos tratamentos de maiores intensidades luminosas (113; 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 31% e 27%, respectivamente. A luz verde proporcionou maior comprimento de parte aérea (3,52cm) e de raiz (5,98cm). O lote de sementes, advindo da casa de vegetação, cultivado em papel de germinação, foi o mais responsivo para todas as variáveis analisadas. Para a propagação assexuada, estacas nodais e apicais, medindo aproximadamente 10 cm, foram transferidas para bandejas, contendo quatro tipos de substratos diferentes (ambiente natural, terra e areia 2:1, terra, areia). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 x 4, sendo dois tipos estacas e quatro tipos de substratos. Utilizaram-se seis repetições e seis estacas por repetição, totalizando 36 indivíduos por tratamento num total de 288 estacas. Após 90 dias, foram avaliados percentuais de enraizamento; porcentual de sobrevivência; número de folhas por estaca; matéria seca das folhas; matéria seca das raízes. Foram realizadas análises de imagens em microscopia eletrônica de varredura para a observação do desenvolvimento em nível microscópico das raízes. Os segmentos nodais proporcionaram maior de número de folhas, cultivados nos substratos do ambiente natural (13,38), seguido por areia (11,71) terra e areia 2:1 (11,54), e terra (8,00). Conclui-se que a propagação de *S. sellowiana* pode ser realizada tanto por sementes quanto por estacas apicais ou nodais em solo com terra + areia 2:1.

Palavras-chave: Gervão. Planta medicinal. Germinação. Estaquia. Substratos. Estabelecimento *in vitro*.

ABSTRACT

Stachytarpheta sellowiana Schauer, commonly known as 'gervão', is endemic to the Cerrado region. As it is a wild plant with medicinal potential, studies that establish propagation methods are necessary to avoid genetic erosion of the species. The objective was to evaluate different ways of propagating *S. sellowiana*, in order to identify the most viable method. Three propagation methods were evaluated: *in vitro* establishment, sexual propagation with different seed lots and asexual propagation by cuttings. In the *in vitro* establishment, 4 different types of medium were tested: MS, supplemented with 30 g L⁻¹ of sucrose; MS with half the concentration of salts and with 15 g L⁻¹ of sucrose; WPM and B5. The most suitable medium was MS with half of the salts and sucrose, and pH 4.4, although it achieved a low survival rate (32%) of the explants. Under these culture conditions, it was found that bacteria did not develop and the seedlings had an 80% survival rate. For the germination tests, lots of seeds collected in the natural habitat, from plants grown in a greenhouse and in flower beds were used. The seeds of each lot were germinated in two types of substrates (earth and sand in a 2:1 proportion and blotting paper). For this, 100 seeds were used per treatment, with 4 replications, containing 25 seeds per replication (gerbox). For the light intensity test, 5 LED light intensities were used (26; 70; 100; 113; 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and 7 light spectra (red; blue; green; white; 70% red: 30% blue; 50% red: 50% blue; 30% red: 70% blue). The experimental design used was the Completely Randomized (DIC), with 6 repetitions, in a total of 11 treatments, containing 12 tubes per repetition. Higher germination rate was found in treatments with higher light intensities (113; 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 31% and 27% successively. Green light provided greater length of shoot (3.52cm) and root (5.98cm). The lot of seeds coming from the greenhouse, grown on germination paper, were the most responsive for all variables analyzed. For asexual propagation, nodal and apical cuttings measuring approximately 10 cm were transferred to trays containing 4 different types of substrates (natural environment, earth and sand 2:1, earth, sand). The experimental design used was completely randomized (DIC), in a 2 x 4 factorial scheme, with two types of cuttings and four types of substrates. 6 repetitions and 6 cuttings per repetition were used, totaling 36 individuals per treatment in a total of 288 cuttings. After 90 days, rooting percentages were evaluated; survival percentage; number of leaves per cutting; dry matter of leaves; root dry matter. Scanning electron microscopy image analyzes were performed to observe the development at the microscopic level of the roots. The nodal segments provided the highest number of leaves, cultivated in the substrates of the natural environment (13.38), followed by sand (11.71), earth and sand 2:1 (11.54), and earth (8.00).

Keywords: Gervão. Medicinal plant. Germination. Cuttings. Substrates. *In vitro* establishment.

1 INTRODUÇÃO

A família Verbenaceae compreende 32 gêneros e 480 espécies (ATIKINS, 2004). No Brasil tem-se a maior flora da família, com 16 gêneros e 286 espécies, sendo 187 endêmicas (THE BRAZIL FLORA GROUP (BFG); ZICKEL, 2015). Entre os gêneros mais representativos, temos o *Stachytarpheta* Vahl, que abrange 81 espécies, sendo 75 endêmicas (SALIMENA; CARDOSO, 2014).

Estudos etnofarmacológicos com as espécies do gênero relataram atividades diuréticas, anti-inflamatórias, analgésicas, laxantes, pneumonias, hepatites, inflamações e antimalárias atribuídas à *Stachytarpheta cayenensis*, (HAMMER; JOHNS, 1993; MILLIKEN *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2017); antídoto para picadas de cobra ou escorpião de *S. indica* (L.) Vahl (AHMAD; HOLDSWORTH, 2003); uso em doenças respiratórias de *S. elatior* Schrad. ex Schult. (AGRA *et al.*, 2007) e purificadora do sangue, resfriado comum, auxílio na lactação conferida à *S. jamaicensis* (L.) Vahl (CLEMENT; BAKSH-COMEAU; SEAFORTH, 2015). Algumas já foram estudadas quanto às suas atividades biológicas, como, por exemplo, efeito antimicrobiano e antifúngico foi relatado para *S. jamaicensis* (KHAN *et al.*, 2020; LIEW; YONG, 2016), atividade antileishmania para *S. cayennensis* (MAQUIAVELI *et al.*, 2016); e alívio de distúrbios gastrointestinais para *S. angustifolia* (Mill.) Vahl (MOHAMMED *et al.*, 2019).

Stachytarpheta sellowiana Schauer, conhecida vulgarmente por gervão, é endêmica da região do cerrado (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2018). Não foram encontrados estudos agrônômicos, químicos ou biológicos com essa espécie na literatura. Por ser uma planta selvagem, são necessários estudos que avaliem aspectos agrônômicos, como sua propagação, já que se trata de uma planta endêmica com potenciais medicinais e ameaçada de extinção. A propagação de plantas, por meio de seus diversos métodos, é aplicada desde o início da agricultura, com o propósito de multiplicar a quantidade de plantas bem como perpetuar as espécies (LINHARES; ARAÚJO; DIAS, 2021).

A propagação de uma planta pode ser via sexuada ou assexuada. Na propagação sexuada, a reprodução é realizada via germinação de sementes. A propagação, via sementes, é uma das mais empregadas na implantação de plantios, e vários fatores podem interferir no sucesso ou não da germinação, entre eles, luz, temperatura, disponibilidade de água e oxigênio (NASSIF; VIEIRA; FERNANDES, 2004). É importante conhecer as condições que favorecem o crescimento, bem como o substrato mais indicado para a germinação e, conseqüentemente, o melhor desenvolvimento das plântulas (BARBOSA, 2017).

Existem diversas formas de reprodução assexuada, mas, no presente trabalho, destacam-se a estaquia e a propagação *in vitro*. A propagação por estaquia é um método bastante difundido e é muito utilizado para a manutenção de espécies de importância econômica e medicinal (EHLERT; LUZ; INNECCO, 2004). Esse método é muito indicado, principalmente, por sua praticidade, simplicidade e economia (MARTINS *et al.*, 2015).

A região onde a planta é cultivada também pode interferir no processo de germinação, pois melhores ou piores condições de umidade e temperatura, durante a maturação das plantas, irão determinar a qualidade fisiológica das sementes (COSTA *et al.*, 2005).

Entretanto o tipo de substrato influencia diretamente no sucesso ou não da propagação de plantas (SCHMITZ; SOUZA; KÄMPF, 2002). Diversas propriedades físicas dos substratos podem influenciar o enraizamento de estacas, como porosidade, densidade e capacidade de retenção de água. Esses fatores podem criar restrições físicas, impedindo o desenvolvimento radicular (PÊGO *et al.*, 2019; PÊGO; GROSSI, 2016). Sendo assim, a utilização de substratos mais adequados, para proporcionar maior enraizamento, são essenciais para a formação de mudas de qualidade.

Outros fatores podem interferir no enraizamento das estacas, como, por exemplo, a lenhosidade do segmento (PAULA, 2016). Quanto maior a quantidade de lignina, maior a dificuldade de enraizamento, quando comparadas com estacas que foram excisadas de partes mais herbáceas das plantas (FRANSON; CARPENEDO; SILVA, 2010). A juvenilidade ontogenética influencia diretamente a competência de enraizamento da planta e, geralmente, tecidos mais jovens apresentam índices de enraizamento maiores, com um sistema radicular de melhor qualidade, gerando mudas mais vigorosas (QUADROS, 2013). O fator de juvenilidade é expresso no sentido do ápice para a base das plantas (ALFENAS *et al.*, 2009). Sendo assim, segmentos apicais podem ser considerados mais jovens que segmentos nodais e, conseqüentemente, acarretarem em diferentes respostas de pegamentos de mudas.

Já a propagação *in vitro* é de fundamental importância, para a conservação de espécies, cujas propriedades medicinais são forte alvo de pesquisa. A propagação *in vitro* garante um abastecimento contínuo de plantas medicinais, utilizando um mínimo de espaço e tempo. A utilização de métodos *in vitro*, para a conservação de material vegetal, apresenta algumas vantagens, em relação à manutenção de coleções vivas em condição de campo, como maior taxa de multiplicação; o ambiente pode ser controlado ou alterado para atender às necessidades específicas da planta; ausência do risco de serem danificados por insetos e doenças; fornecimento contínuo de plantas medicinais, ao longo do ano, entre outros (CHATTERJEE; GHOSH, 2020). Embora essa técnica tenha como desvantagem o custo elevado, a crescente

demanda da indústria farmacêutica por plantas indexadas, livres de vírus, com alta qualidade fitossanitária e fisiológica, bem como com capacidade de síntese de metabólitos secundários potencializada, coloca essa técnica como uma das mais interessantes para plantas medicinais (MORAIS *et al.*, 2012).

No que diz respeito a estudos de propagação com espécies do gênero *Stachytarpheta*, apenas o estudo de Rajender *et al.* (2012) que realizaram o cultivo *in vitro* com *S. jamaicensis* foi encontrado na literatura. Esses autores acharam uma taxa de 75% de sobrevivência, após a aclimação, quando as plântulas foram cultivadas, utilizando 0,5mg L⁻¹ de IBA (ácido indolbutírico) e 0,5mg L⁻¹ de BAP (6-benzilaminopurina).

O presente estudo teve como objetivo avaliar diferentes métodos de propagação para a espécie *Stachytarpheta sellowiana*. Foram avaliados três métodos, sendo dois de forma assexuada (enraizamento via estacas apicais e nodais e estabelecimento *in vitro*) e uma forma de reprodução sexuada (sementes).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização experimental

Os experimentos de germinação de sementes e estabelecimento *in vitro* foram desenvolvidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Medicinais no Departamento de Agricultura, da Escola Superior de Agricultura, na Universidade Federal de Lavras (DAG/ESAL/UFLA), localizada na região sul de Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas 21°14 ' S e 45°00 ' W, em 918 m de altitude.

2.2 Germinação de sementes

2.2.1 Germinação *in vitro* sob diferentes intensidades e qualidades luminosas

As sementes foram desinfestadas com álcool 70%, por 1(um) minuto e, posteriormente, transferidos para água sanitária 50%, agitada por 10 a 15 minutos e lavadas cinco vezes com água destilada autoclavada, cada lavagem por 1(um) minuto.

Após a assepsia, as sementes foram transferidas para tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com metade das concentrações dos sais (MS/2), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 5,5 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7± 0,1 e autoclavado a 120°C e 1(um) atm, por 20 minutos. Os tubos foram encaminhados à sala de crescimento, a 26°C, e acondicionados sob cinco intensidades de lâmpadas LED (26; 70; 100; 113; 144 µmol m⁻² s⁻¹), aferidas por meio do medidor PRO CHECK + PAR PHOTON FLUX SENSOR, MODELO QSO-S (DECAGON DEVICES - Pullman-Washington-USA) e sete espectros de luzes: vermelha; azul; verde; branca (LED); 70% vermelha:30% azul; 50% vermelha: 50% azul; 30% vermelha: 70% azul.

2.2.2 Delineamento experimental

Foram organizados dois experimentos distintos, um com cinco intensidades de lâmpadas LED (26; 70; 100; 113; 144 µmol m⁻² s⁻¹), ou com sete espectros de luzes monocromáticas: vermelha; azul; verde; branca (LED); e combinações: 70% vermelha:30% azul; 50% vermelha: 50% azul; 30% vermelha: 70% azul. O delineamento experimental foi o Inteiramente Casualizado (DIC), com seis repetições, contendo 12 tubos por repetição.

2.2.3 Variáveis analisadas

A partir do início da primeira germinação, após 30 dias, foi feito um acompanhamento a cada três dias, num período total de 100 dias, para a contagem de germinação e crescimento das sementes. As avaliações foram feitas com base nas Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009). No final dos 100 dias, as plântulas sobreviventes foram examinadas, quanto ao tamanho de raiz e parte aérea, com auxílio de uma régua, e os resultados foram expressos em cm.

2.3 Germinação em Gerbox de dois lotes de sementes

2.3.1 Localização experimental

O experimento de germinação de sementes em gerbox foi desenvolvido no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes - LCPS, no Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura, na Universidade Federal de Lavras (DAG / UFLA), localizada na região Ssul de Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas 21°14 ' S e 45°00 ' W, em 918 m de altitude.

2.3.2 Condução do experimento

Sementes de *S. sellowiana* foram coletadas de plantas cultivadas, em dois ambientes diferentes, caracterizando um lote oriundo de casa de vegetação e o outro de canteiro ao ar livre. Primeiramente foi feita a assepsia dos gerbox com álcool 70°GL, depois, as sementes passaram por um processo de esterilização com hipoclorito de sódio 1% por 3 min. As sementes foram semeadas em dois substratos diferentes, folhas de papel mata-borrão e areia + terra (2:1). Para umedecer o substrato, as folhas foram pesadas e foram adicionados 2,5x o valor do peso em água destilada. Após a inoculação, elas foram acondicionadas em BODs (Biochemical Oxygen Demand) com fotoperíodo de 12/12 de luz e escuro, à temperatura constante de 25°C.

2.3.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o DIC, contendo quatro tratamentos e quatro repetições e cada repetição com 25 sementes por gerbox. Os tratamentos constavam em

sementes do ambiente natural, cultivadas em terra e em papel e sementes do ambiente controlado, cultivadas em terra e em papel.

2.3.4 Variáveis analisadas

Para o monitoramento de germinação, as contagens de plântulas normais foram feitas, a cada três dias até 60 dias, obtendo-se o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e a Germinação expressa em porcentagem de plântulas normais obtidas (BRASIL, 2009). As avaliações foram feitas com base nas Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009). Após 60 dias, as plântulas sobreviventes também foram avaliadas quanto ao tamanho de raiz e parte aérea, com auxílio de uma régua, e os resultados foram expressos em cm.

2.3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos ($p < 0,05$), aplicou-se o teste de Scott-Knott, utilizando o programa estatístico R (THE R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2017).

2.4 Enraizamento de estacas

As estacas foram coletadas de plantas matrizes, na Serra do Campestre em Lavras-MG, situada nas coordenadas geográficas 21° 14'S 00 W, a 918 m de altitude. Essa espécie foi registrada na Plataforma SisGen (Registro A97517C), de acordo com a Lei da Biodiversidade Brasileira nº 13.123 / 2015. A coleta foi feita, no período da manhã e foram seccionados os ramos inteiros e, em seguida, acondicionados em recipientes com água e transportados até o horto de plantas medicinais, onde as estacas foram selecionadas e padronizadas.

Os tipos de estacas foram: apicais (retiradas do ápice do ramo da planta matriz) e nodais (retiradas a partir do 3º e ou 4º nó); cortadas com tesoura de poda em formato bisel nas extremidades. Foram utilizadas estacas de aproximadamente 10cm, com dois a três nós, sem ramificações e com um par de folhas. Após o corte e antes do plantio nos substratos, as estacas foram acondicionadas, em bandejas de polietileno, mantidas úmidas até o momento do plantio. Não foi realizado nenhum tratamento de desinfestação das estacas antes do plantio. As estacas foram plantadas verticalmente, aprofundando-se 1/3 da estaca no substrato. As bandejas com as

estacas foram dispostas, em bancadas da casa de vegetação, sob sombrite (50%). As estufas continham um sistema de irrigação por nebulização.

Para o enraizamento, foram avaliados quatro tipos de substratos (S1: areia, S2: terra, S3: terra e areia 2:1, S4: solo da serra) e dois tipos de estacas (apicais e nodais). Amostras dos substratos foram coletadas e enviadas para o Laboratório de Análise de Solos da UFLA, DCS, cujos resultados estão apresentados na Tabela 1. Esses solos foram acondicionados em bandejas de isopor, com 72 células.

Tabela 1 - Composição química dos diferentes substratos das origens de amostras de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer.

Substratos	pH	M.O.	K	P	Al	Ca	Mg
	Água	%(m/v)mg dm ³	dm ³cmol/dm ³	
Terra + areia	5,4	1,03	25,89	2,52	0,07	0,68	0,05
Terra	6	1,41	26	1,13	0	1,2	0,2
Ambiente	5,4	1,1	46,26	1,7	0,1	0,41	0,15
Areia	5,3	0,21	8,3	5,89	0,1	0,74	0,25

Fonte: Da autora (2021).

2.5 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 x 4, sendo dois tipos de estacas e quatro tipos de substratos. Utilizaram-se seis repetições e seis estacas por repetição, totalizando 36 indivíduos por tratamento num total de 288 estacas de *Stachytarpheta sellowiana*.

2.6 Variáveis analisadas

As características avaliadas foram percentuais de enraizamento; porcentual de sobrevivência; número de folhas por estaca; matéria seca das folhas; matéria seca das raízes. Foram feitas também fotos por microscopia eletrônica de varredura para a observação do desenvolvimento em nível microscópico das raízes.

2.7 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos ($p < 0,05$), aplicou-se o teste de Scott-Knott, utilizando o programa estatístico R, pacote ExpDes (THE R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2017).

2.8 Estabelecimento *in vitro*

Foram excisados segmentos apicais de plantas *Stachytarpheta sellowiana*, mantidas em casa de vegetação, com 1 cm de comprimento. Esses segmentos foram lavados em água corrente com detergente por 15 min. Em seguida, foram transferidos para um recipiente contendo álcool 70%, sendo agitados por 1 minuto. Posteriormente, foram transferidos para água sanitária 50%, agitando por 15 minutos. Após esse processo, foram transferidos para uma câmara de fluxo onde foram lavados cinco vezes com água destilada autoclavada.

Após a assepsia, os propágulos foram transferidos para tubos de ensaio (25x150 mm), contendo 15 mL de meio de cultura, de quatro tipos diferentes de meio de cultura: MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, MS/2 com metade da concentração de sais e com 15 gL⁻¹ de sacarose, WPM (LLOYD; McCOWN, 1980) e B5 (GAMBORG; MILLER; OJIMA, 1968). Todos foram autoclavados a 120 °C e 1 atm, por 20 minutos. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h luz/8h escuro, sob intensidade luminosa de 42 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, à temperatura de 26±1 °C. Depois de 90 dias de estabelecimento, foi verificada a porcentagem de sobrevivência em cada tipo de meio. Foram consideradas sobreviventes as plântulas que possuíam ao menos um par de folhas.

Após avaliar o melhor meio de estabelecimento, as plantas sobreviventes foram multiplicadas. Para isso, foram excisados segmentos apicais e nodais, sem folhas, com 1 cm de comprimento, as quais foram inoculados, em meio MS/2 com metade da concentração de sais e com 15 gL⁻¹ de sacarose, pH 4,4, contendo 15 mL de meio de cultura líquido, cujo meio foi acidificado com HCl 0,5M até chegar ao pH 4,4, com o objetivo de diminuir o crescimento de bactérias. Em seguida, o meio foi autoclavados a 120 °C e 1 atm, por 20 minutos. Os explantes foram mantidos, em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h luz/8h escuro, sob intensidade luminosa de 42 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, à temperatura de 26±1 °C. Depois de 90 dias de estabelecimento, foi verificada a porcentagem de sobrevivência.

2.9 Microscopia eletrônica de varredura - MEV

Com o intuito de observar as estruturas e desenvolvimento anatômico das raízes, foi feita a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Foram coletados pedaços da parte mediana das raízes, com 1cm, de comprimento, as quais foram identificadas separadamente pelos seus tratamentos e colocadas em sacos de alumínio.

No Laboratório de Microscopia Eletrônica da UFLA do Departamento de Fitopatologia, foram fixadas em microtubos de 1,5 ml, com Karnovsky modificado (Glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05M, pH 7,2, CaCl₂ 0,001M). Em seguida, foram desidratadas, em gradientes progressivos de acetona (25, 50, 75, 90 e 100%), por 10 minutos cada e submetidas à secagem ao ponto crítico (BAL-TEC, modelo CPD-030, Principality of Liechtenstein), montadas em *stubs* de alumínio com fita adesiva dupla-face, para então, receber cobertura metalizada, em evaporador de ouro Sputtering (BAL-TEC, modelo SCD-050, Principality of Liechtenstein). As amostras foram observadas em microscópio eletrônico de varredura (LEO, modelo EVO 40 XVP, Cambridge-UK (ALVES *et al.*, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Germinação das sementes *in vitro* sob diferentes intensidades e qualidades luminosas

Após 90 dias, foi constatada maior porcentagem de germinação nos tratamentos de maiores intensidades luminosas (113; 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 31% e 27% sucessivamente (TABELA 2). Esses dados corroboram com os estudos de Machado *et al.* (2011), que constataram que as sementes de *Cordia verbenacea* D.C. (Boraginaceae), uma planta medicinal conhecida tradicionalmente como erva-baleeira, germinaram sob luz constante. A germinação de sementes de *Stachytarpheta cayennensis* (L.C. Rich) Vahl, também, foi favorecida, quando estava sob a presença de luz (ROSSETTO; VIEGAS; NAKAGAWA, 2000). Esses resultados indicam que essas sementes podem ser fotoblásticas positivas.

Entretanto, para as variáveis de desenvolvimento analisadas, tamanho de parte aérea e tamanho de raiz, maiores valores (3,42 cm e 4,89 cm) foram encontrados no tratamento com menores intensidades luminosas (26 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Os maiores valores de comprimento da parte aérea, nas menores intensidades, podem ser justificados pelo estiolamento das plântulas. Estiolamento é quando as plântulas se desenvolvem na ausência ou em baixas intensidades de luz, o que gera um crescimento geralmente alongado e com coloração amarela ou branca, por ausência de clorofila (TAIZ *et al.*, 2017).

Tabela 2 - Porcentagem de germinação de sementes e comprimentos da parte aérea e raiz de *Stachytarpheta sellowiana*, sob diferentes intensidades luminosas.

Intensidade de Luz $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Germinação (%)	Comprimento da Parte aérea (cm)	Comprimento de Raiz (cm)
26	25 b	3,42 a	4,89 a
70	18 c	2,84 b	4,62 b
100	25 b	2,59 c	4,07 c
113	31 a	2,52 c	3,93 d
144	27 a	2,18 d	3,86 d
CV (%)	7,56	2,29	2,03

Fonte: Da autora (2021).

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O espectro luminoso influenciou significativamente a germinação *in vitro* das sementes de *Stachytarpheta sellowiana* (TABELA 3). Os maiores percentuais de germinação foram observados sob a luz verde monocromática (33%), seguido pela luz azul (28%) e combinação azul 70% e vermelho 30% (27%). Maiores proporções de luz vermelha (monocromática

vermelha, vermelha 50%: azul 50% e azul 30%: vermelha 70%) prejudicaram a germinação de sementes de *S. sellowiana*, sendo entre elas a combinação vermelha 50%: azul 50% a que mais inibiu a germinação. Embora sob luz branca, a germinação também foi altamente prejudicada, em que há uma proporção de luz vermelha.

As sementes podem ser classificadas em fotoblásticas positivas, negativas ou neutras, de acordo com a absorção do comprimento de onda da qualidade luminosa. Elas são consideradas fotoblásticas positivas, quando precisam da luz branca ou vermelha para germinar, fotoblásticas negativas, quando germinam com a luz vermelha intensa ou na ausência de luz; e tem-se também a classificação de fotoblásticas neutras quando germinam independente do espectro de luz visível (TAIZ *et al.*, 2017).

Existe, nas plantas, um pigmento chamado fitocromo, que é o responsável pela captação da luz, em que há duas formas que podem ser alteráveis, o fitocromo inativo (FV) e o fitocromo ativo (FVE). Sob as qualidades de luz vermelha ou azul, o fitocromo inativo (FV) modifica sua organização, convertendo-se em fitocromo ativo (FVE). Quando o fitocromo absorve a luz vermelha intensa, o FVE converte-se em FV (TAIZ *et al.*, 2017). Como a germinação foi dificultada em qualidades luminosas com luz vermelha, pode-se inferir que as sementes tendem ao fotoblastismo negativo.

Tabela 3 - Porcentagem de germinação de sementes e comprimento da parte aérea e raiz de *Stachytarpheta sellowiana*, sob diferentes qualidades luminosas, após 90 dias.

Qualidade de luz	Germinação (%)	Comprimento da Parte aérea (cm)	Comprimento de Raiz (cm)
Verde	33 a	3,52 a	5,98 a
Branca	12 e	2,20 d	2,28 d
Vermelha	19 c	3,05 b	4,82 b
Azul	28 b	2,05 e	1,94 f
70% A 30% V	27 b	1,96 e	1,98 f
50% V 50% A	08 f	2,24 d	2,10 e
30% A 70% V	15 d	2,66 c	3,42 c
CV (%)	8,50	2,53	2,75

Fonte: Da autora (2021).

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A qualidade espectral de luz também influenciou nos parâmetros de comprimento da parte aérea e das raízes de plântulas de *Stachytarpheta sellowiana*. Assim, como para a porcentagem de germinação, a luz verde proporcionou maior comprimento de parte aérea (3,52cm) e de raiz (5,98cm). O comprimento de onda da qualidade luminosa verde tem um

baixo coeficiente de absorção pelas plantas (KIM *et al.*, 2004). Portanto esses valores podem ter sido pelo estiolamento das plântulas e não por maior absorção nessa faixa visível. Porém esse espectro proporcionou maiores taxas de germinação quando comparado aos demais. Esse fator pode indicar também a tendência das sementes ao fotoblastimo negativo.

A qualidade e a intensidade luminosa são fatores importantes tanto para o desenvolvimento quanto para a fotossíntese das plantas. A absorção de luz por fitocromos, entre os comprimentos de onda do azul ao vermelho intenso, pode ou não incitar a germinação das sementes (TAIZ *et al.*, 2017). Portanto a predisposição da semente, em relação à luz, varia de acordo com a qualidade e a intensidade luminosa (BEWLEY *et al.*, 2013).

3.2 Germinação de sementes em gerbox

O lote de sementes advindo da casa de vegetação, cultivado em papel de germinação, foi o mais responsivo para todas as variáveis analisadas (TABELA 4). Nesse tratamento, foram encontradas melhores respostas, para o percentual de germinação (52%), índice de velocidade de germinação (4,96) e comprimento de parte aérea (5,40 cm). A Figura 1 corrobora com os dados observados na Tabela 4.

Nota-se que não houve diferença estatística para a porcentagem de germinação entre papel e areia/solo. Em todas as variáveis, as sementes do ambiente natural apresentaram respostas estatisticamente inferiores, quando comparadas às de casa de vegetação. Isso se deve, provavelmente, ao fato de que as sementes produzidas em ambiente ficaram mais expostas a intempéries, como oscilações de temperatura e umidade relativa do ar, que as sementes produzidas em casa de vegetação, o que pode provocar deterioração e consequente perda de qualidade. As grandes variações na umidade relativa do ar aceleram o processo de deterioração em campo, o que contribui para a redução da germinação e vigor das sementes (EBONE; CAVERZAN; CHAVARRIA, 2019; LEPRINCE *et al.*, 2017).

Tabela 4 - Porcentual de germinação, Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e tamanho da parte aérea de lotes de sementes de *S. sellowiana*, cultivadas em diferentes tipos de substratos.

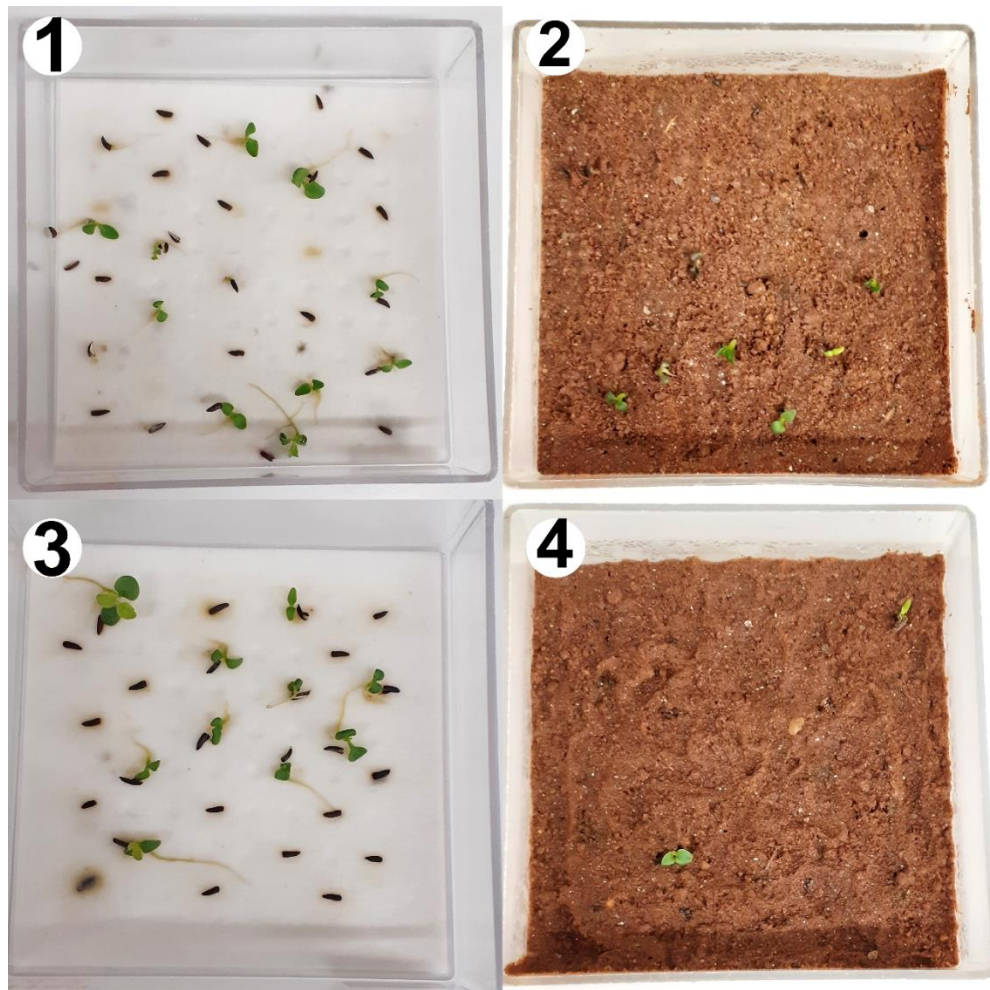
Produção de sementes	Substratos	
	Germinação (%)	
	Papel de germinação	Areia/solo
Casa de vegetação	52 aA	46 aA
Ambiente natural	33 aB	26 bB
CV (%)	21,32	
	IVG	
Casa de vegetação	4,96 aA	3,97 bA
Ambiente natural	2,98 aB	2,64 aB
CV (%)	12,64	
	Tamanho de parte aérea (cm)	
Casa de vegetação	5,40 aA	3,91 bA
Ambiente natural	2,34 aB	1,97 aB
CV (%)	14,52	

Fonte: Da autora (2021).

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. Letras minúsculas na linha, maiúsculas na coluna.

Muitos fatores podem interferir no processo de germinação, como temperatura, luz, oxigênio, água, dormência e viabilidade de sementes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Há dois fatores muito importantes que interferem diretamente a germinação, sendo eles o tipo de substrato e a temperatura (OLIVEIRA *et al.*, 2016). De acordo com Nogueira *et al.* (2012), o tipo de substrato é o fator que mais afeta a germinação. Por isso, é necessário definir qual o substrato é mais indicado para o desenvolvimento de cada espécie vegetal. Quando em testes de germinação, o substrato pode exercer a função do solo, servindo de suporte para a parte aérea da planta, além de fornecer umidade às sementes e levar a condições mais adequadas para o seu desenvolvimento. Dessa forma, pode favorecer ou prejudicar a germinação (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

Figura 1 - Germinação de sementes de *Stachytarpheta sellowiana* oriundas de casa de vegetação e canteiro em diferentes substratos.



Legenda: 1- Lote casa de vegetação em papel mata borrão; 2- Lote casa de vegetação na areia:terra 2:1; 3- Lote canteiro em papel mata borrão; 4- Lote canteiro na areia:terra 2:1.

Fonte: Da autora (2021).

3.3 Enraizamento de estacas apicais e nodais em diferentes tipos de substratos

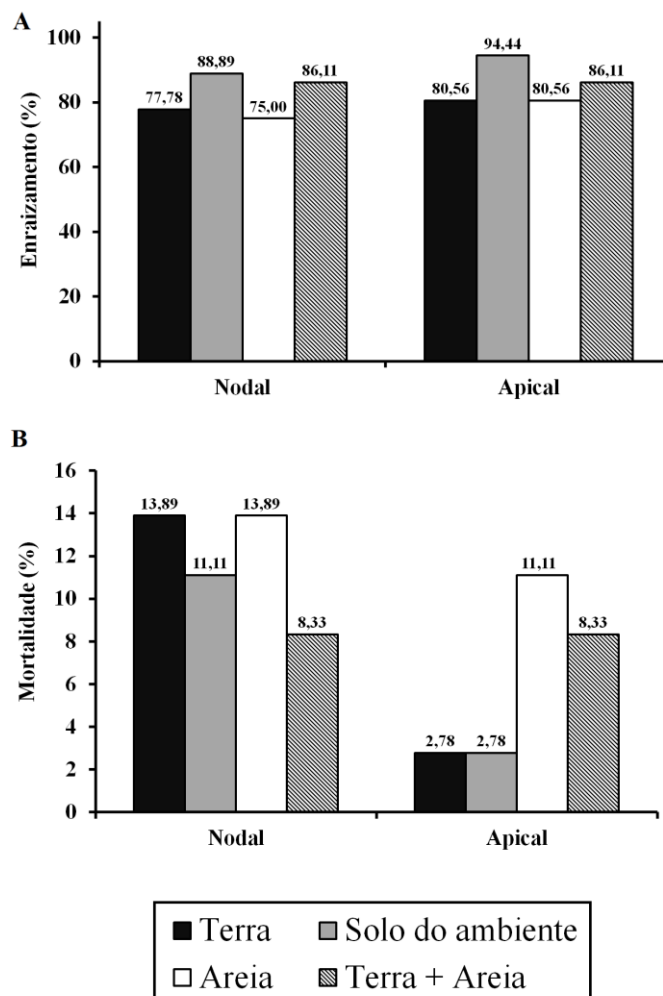
No substrato do ambiente natural, foi observado o maior percentual de enraizamento (94,44%), a partir de segmentos apicais (FIGURA 2A). Para todos os tipos de substratos, os segmentos apicais apresentaram porcentagem de enraizamento acima de 80%. Os demais tratamentos apresentaram porcentagem de enraizamento na terra + areia de 86,11% e somente terra ou somente areia 80,56%. Entretanto os segmentos nodais, cultivados no solo do ambiente natural e na terra+areia, tiveram também percentuais de enraizamento consideráveis 89,89% e 86,11%, respectivamente. Esses dados corroboram com os de Silva *et al.* (2015), cujas estacas apicais foram as mais indicadas para a produção de mudas de alecrim-de-tabuleiro (*Lippia organoides* Kunth, Verbenaceae). Oliveira *et al.* (2008), também, obtiveram resultados

semelhantes, uma vez que estacas apicais foram as mais indicadas para a reprodução de plantas de *Lippia sidoides* Cham (verbenaceae).

Esses resultados demonstram que a propagação via estaca é altamente recomendada para a reprodução de mudas de *S. sellowiana*. Já Pimenta *et al.* (2007), em sua pesquisa com 10 espécies de *Lippia* ssp, constataram que a reprodução por sementes é a mais indicada, em razão da eficiência reduzida de reprodução via propagação assexuada.

Quando se avaliou a taxa de mortalidade, observou-se que as estacas apicais tiveram maiores índices de sobrevivência (FIGURA 2B). As menores taxas de mortalidade foram observadas, nos tratamentos com terra e solo ambiente, para as estacas apicais, enquanto as maiores taxas de mortalidade foram verificadas nos segmentos nodais que utilizaram os substratos, terra e areia (13,89% para ambos).

Figura 2 - Percentuais de enraizamento (A) e mortalidade (B) de estacas apicais e nodais de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer, nos diferentes tipos de substratos, após 90 dias de cultivo.

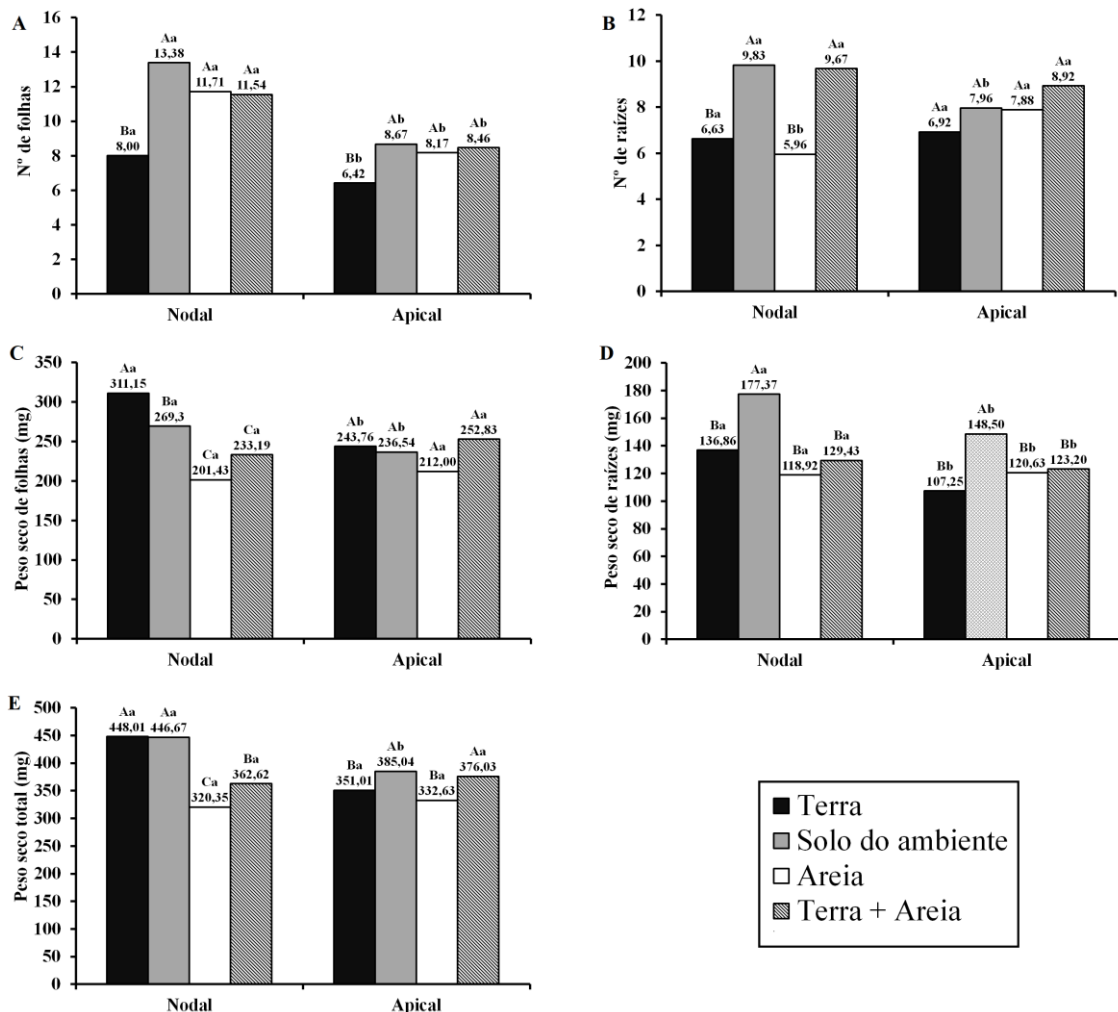


Fonte: Da autora (2021).

Para as variáveis de desenvolvimento, os segmentos nodais foram mais responsivos (FIGURAS 3 e 4). Maiores valores de número de folhas foram detectados, nos substratos do ambiente natural (13,38), seguido por areia (11,71) e terra/areia (11,54) e terra (8,00). Para os segmentos apicais, o número de folhas, também obteve maiores valores para os tratamentos solo do ambiente (8,67), terra e areia (8,46) e somente areia (8,17). O tratamento com o substrato somente terra (6,42) foi o que teve menor resposta.

Já o peso seco das folhas, para os segmentos nodais, o tratamento com terra foi o que obteve maior média (311,15mg). Com as forças de tensão, coesão e adesão, ocorre o movimento ascendente da seiva bruta e, com isso, as folhas assimilam essa seiva pela fotossíntese, favorecendo o desenvolvimento das estacas (TAIZ *et al.*, 2017).

Figura 3 - Análises de crescimento dos propágulos de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer, em diferentes tipos de substratos, após 90 dias de cultivo.



Legenda: Letras maiúsculas entre os substratos (terra, serra, areia e terra+areia). Letras minúsculas entres os segmentos (nodal e apical). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021).

Figura 4 - Condução do experimento de enraizamento, com segmentos nodais e apicais, nos diferentes tipos de substratos.



Legenda: A = Terra/Areia; B = Solo do ambiente natural; C = Areia; D = Terra.

Fonte: Da autora (2021).

O alto valor de Ca, na terra utilizada como substrato, comparada com os demais substratos, pode ter influenciado na maior matéria seca de folhas. De acordo com Taiz *et al.* (2017), o Ca é utilizado na síntese de novas paredes celulares e no fuso mitótico da divisão celular, princípios que participam ativamente da formação dos órgãos vegetais. Como o nutriente faz parte das membranas celulares, ele pode ter induzido à produção de folhas mais espessas, levando-as a um maior peso seco.

Larentis *et al.* (2021), em seu trabalho com *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae), constataram que a presença de folhas nas estacas não interferiu no resultado final do enraizamento de estacas. Sendo assim, para a produção de mudas vigorosas, as folhas não auxiliam numa maior taxa de enraizamento, sendo irrelevantes nesse processo.

Maiores números de raízes foram verificados nos tratamentos com substrato do ambiente natural (9,83) e terra/areia (9,67) para segmentos nodais e, para segmentos apicais, não houve diferença significativa. Nota-se, no tratamento com solo do ambiente, um sistema radicular com raízes primárias e secundárias, com sistema radicular bem desenvolvido e proporcional à parte aérea (FIGURA 5).

Maior peso seco das raízes foram detectados nos tratamentos que se utilizaram o substrato do ambiente natural, para ambos os segmentos, sendo 177,37mg para segmentos nodais e 148,50mg para os apicais.

Figura 5 - Estacas enraizadas de *Stachytarpheta sellowiana* após 90 dias de cultivo.

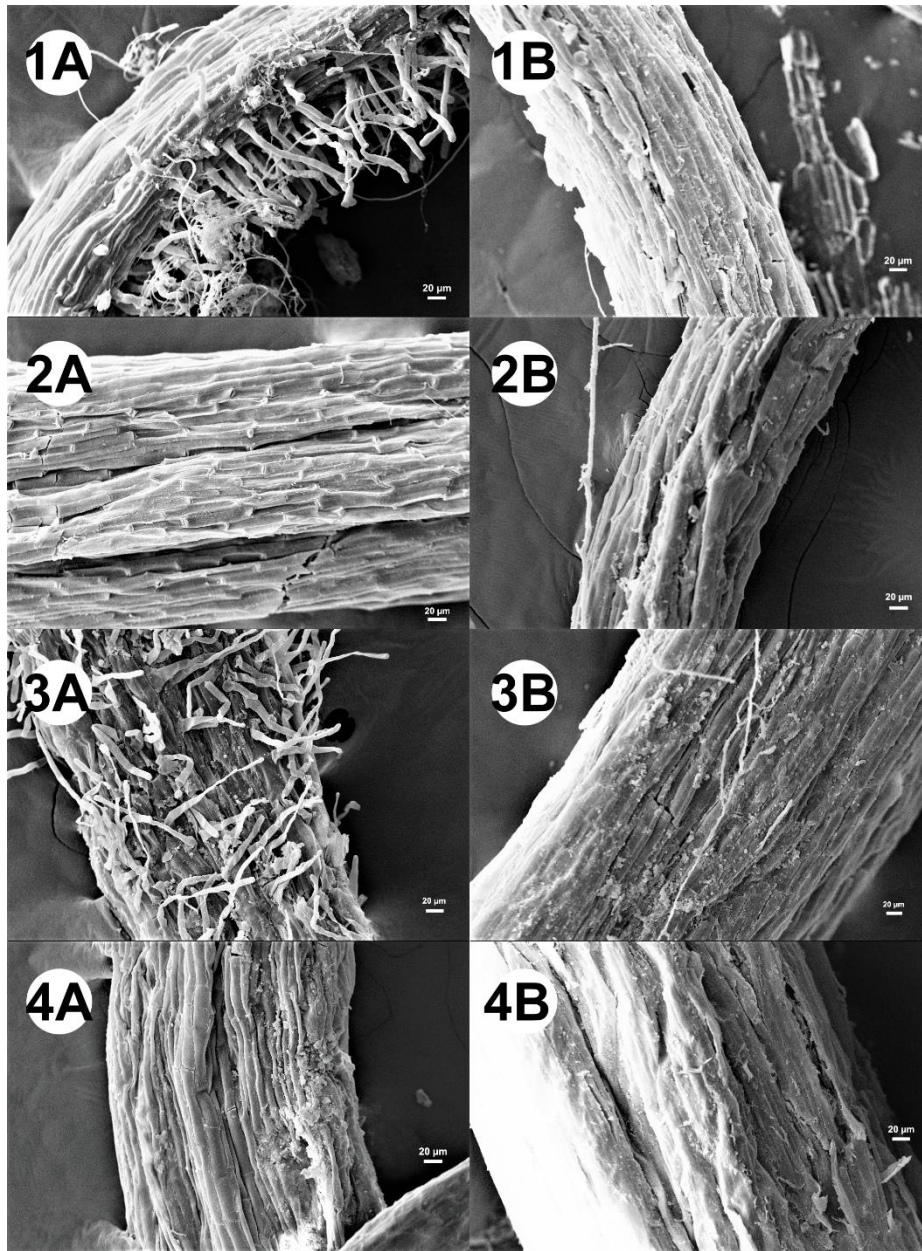


Fonte: Da autora (2021).

As raízes do tratamento com substrato do ambiente natural e terra+areia, oriundas do segmento apical, apresentaram uma grande quantidade de pelos radiculares (FIGURA 6-1A), os quais aumentam a superfície de contato e podem promover maior absorção de água e nutrientes. O substrato do ambiente natural apresentou alta quantidade do nutriente K ($46,26 \text{ mg dm}^{-3}$, o que pode ter interferido no maior peso seco de raízes. O K tem um papel importante, na regulação do potencial osmótico das células vegetais, além de ativar enzimas que participam dos processos de respiração e fotossíntese (TAIZ *et al.*, 2017). Esses processos são responsáveis pelo desenvolvimento das plantas.

No caso do gervão, as estacas apicais são menos lignificadas, quando comparadas com as nodais. Pacheco e Franco (2008), em seus estudos, concluíram que a composição química do tecido da planta pode variar, ao longo do ramo, sendo assim, estacas de diferentes partes podem promover diferentes respostas ao enraizamento.

Figura 6 - Microscopia eletrônica no aumento de 200X das raízes de *Stachytarpheta sellowiana*.



Legenda: 1: Solo ambiente; 2: Areia; 3: Terra e areia; 4: Terra; A: Apical; B: Nodal. Escala = 20µm.
Fonte: Da autora (2021).

De acordo com Pêgo *et al.* (2019), as propriedades físicas dos diferentes substratos, como densidade, capacidade de retenção de água, porosidade, podem interferir diretamente no enraizamento de plantas. Estes atributos podem ser fatores que limitam fisicamente a emissão de raízes, suprimindo a propagação das estacas. Neste contexto, pode-se inferir que o substrato do ambiente natural, por sua estrutura grosseira e irregular, contribuiu para a drenagem eficiente do substrato, resultando em melhor desenvolvimento do sistema radicular das estacas de *Stachytarpheta sellowiana*. O sistema radicular é determinante para induzir um ótimo desenvolvimento da planta. Estudos de Klein, Cohen e Hebbe (2000) concluíram que a

conformidade das raízes, bem como maior enraizamento, são características essenciais para a formação de mudas superiores.

Maior matéria seca total foi encontrada, no tratamento com terra (448,01mg), e substrato do ambiente natural (446,67mg), para os segmentos nodais (FIGURA 3). Para os segmentos apicais, os substratos do solo do ambiente natural (385,04mg) e terra e areia (376,03mg) foram os que apresentaram maiores valores. De um modo geral, os segmentos nodais obtiveram maiores valores para o desenvolvimento que os segmentos apicais, apesar da taxa de sobrevivência ser maior com os segmentos apicais. Dados correspondentes foram encontrados, nos trabalhos de Santos *et al.* (2016), em que avaliaram o tipo de estaca e substrato na propagação vegetativa de *Lippia gracilis* Schauer. Concluíram que, para todas as variáveis analisadas, as estacas medianas e basais apresentaram melhores resultados que as apicais.

3.4 Estabelecimento *in vitro*

O meio MS/2 foi o mais adequado, para o estabelecimento *in vitro* de *S. sellowiana*, embora tenha alcançado uma baixa taxa de sobrevivência (32%) dos explantes (TABELA 2). Esse estabelecimento foi muito afetado pela contaminação principalmente por bactéria. O crescimento de microrganismos foi observado em todos os meios avaliados. A Figura 7 mostra uma plântula estabelecida no meio MS/2.

Com o intuito de identificar qual microorganismo havia causado essas infecções, o material foi colhido e encaminhado para o Laboratório de Microbiologia da UFLA, do Departamento de Ciências dos Alimentos, no qual se constatou que se tratava da bactéria *Pseudomonas oryzihabitans* Kodoma, Kimura e Komagata (1985), (Pseudomonadaceae).

De acordo com a literatura, as bactérias apresentam dificuldade de crescimento e desenvolvimento em meios ácidos como por exemplo a pseudomona *Pseudomona aeruginosa* (SOARES; SANTANA, 2020) e *Pseudomona fluorescens* (GONÇALVES *et al.*, 2017).

A espécie *Stachytarpheta sellowiana* foi coletada, em áreas com solo ácido, de acordo com a análise de solo (ANEXO A). Neste sentido, buscou-se a multiplicação das plântulas sobreviventes no meio MS/2 dos sais (pH 5,8), em meio ácido (MS/2 dos sais e sacarose, pH4,4). Nessas condições de cultivo, verificou-se que as bactérias não se desenvolveram, e as plântulas tiveram uma taxa de sobrevivência de 80%.

Figura 7 - Plântula de *Stachytarpheta sellowiana*, estabelecida no meio MS/2, após 90 dias de inoculação.



Fonte: Da autora (2021).

Tabela 5 - Percentual de sobrevivência dos explantes, em diferentes meios de cultura, após 90 dias.

Meio	pH	Taxa de sobrevivência (%)
MS	5,8	14
MS/2 dos sais	5,8	32
WPM	5,8	27
B5	5,8	6,5

Fonte: Da autora (2021)

4 CONCLUSÃO

O método mais viável de propagação de *Stachytarpheta sellowiana* é o enraizamento de estacas apicais ou nodais em solo com terra + areia.

A germinação de sementes pode ser também uma via de propagação. Entretanto é altamente influenciada pelo substrato e pelas intensidades e qualidades luminosas. As maiores porcentagens de germinação ocorrem no papel mata borrão em gerbox e em intensidades entre 113 e 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ou sob luz verde na germinação *in vitro* em meio de cultura MS/2, suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 5,5 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7 \pm 0,1.

O estabelecimento *in vitro* de *Stachytarpheta sellowiana* apresentou dificuldades pelos elevados índices de contaminação por *Pseudomonas oryzihabitans*. Entretanto sugere-se, para estudos futuros de propagação *in vitro* que o estabelecimento de segmentos apicais advindos de plantas matrizes seja feito no meio de cultivo MS na metade da concentração dos sais e sacarose e ajuste do pH em 4,4.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, FAPEMIG, CNPq por auxílio financeiro e bolsas.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F. *et al.* Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, Lausanne, v. 111, n. 2, p. 383-395, May 2007.
- AHMAD, F. B.; HOLDSWORTH, D. K. Medicinal plants of Sabah, east Malaysia-Part I. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 41, n. 5, p. 340-346, 2003.
- ALFENAS, A. C. *et al.* **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2 ed. Viçosa: Ed. UFV, 2009. 500 p.
- ALVES, E. *et al.* Retention sites for *Xylella fastidiosa* in four sharpshooter vectors (Hemiptera: Cicadellidae) analyzed by scanning electron microscopy. **Current Microbiology**, New York, v. 56, n. 5, p. 531-538, May 2008.
- ATKINS, S. Verbenaceae. *In*: KADEREIT, J. W. (Ed.). **The families and genera of flowering plants**. Berlin: Springer-Verlag, 2004. v. 7, p. 449-468.
- BARBOSA, A. F. **Germinação e crescimento inicial de *Adenantha pavonina* L. adubada com composto orgânico**. 2017. 35 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Agroecologia) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2017.
- BEWLEY, J. D. *et al.* **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. Nova York: Springer, 2013. 392 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. 399 p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.
- CHATTERJEE, T.; GHOSH, B. Micropropagation of medicinal plants: a review. **International Journal of Economic Plants**, Oxford, v. 7, n. 2, p. 66-72, Sept. 2020.
- CLEMENT, Y. N.; BAKSH-COMEAU, Y. S.; SEAFORTH, C. E. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Trinidad. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, [London], v. 11, p. 1-28, Sept. 2015.
- COSTA, N. P. da *et al.* Perfil dos aspectos físicos, fisiológicos e químicos de sementes de soja produzidas em seis regiões do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 1-6, dez. 2005.
- EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 145, p. 34-42, Dec. 2019.
- EHLERT, P. A. D.; LUZ, J. M. Q.; INNECCO, R. Propagação vegetativa da alfavaca-cravo utilizando diferentes tipos de estacas e substratos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 10-13, jan./mar. 2004.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. **Flora do Brasil 2018 em construção**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 7 maio 2022.

FRANSON, R. C.; CARPENEDO, S.; SILVA, J. C. S. **Produção de mudas**: principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. 56 p. (Documentos 283).

GAMBORG, O. L.; MILLER, R. A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, New York, v. 50, n. 1, p. 151-158, 1968.

GONÇALVES, L. D. dos A. *et al.* Predictive modeling of *Pseudomonas fluorescens* growth under different temperature and pH values. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 352-358, abr./jun. 2017.

HAMMER, M. L. A.; JOHNS, E. A. Tapping an Amazonian plethora: four medicinal plants of Marajo Island, Para (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 40, n. 1, p. 53-75, Sept. 1993.

HARTMAN, H. T.; KESTER, D. E. **Propagacion de plantas**: principios y practicas. México: Continental, 1990. 760 p.

KHAN, M. M. *et al.* Antibacterial studies of ZnO and Cu-doped ZnO nanoparticles synthesized using aqueous leaf extract of *Stachytarpheta jamaicensis*. **BioNanoScience**, New York, v. 10, n. 4, p. 1037-1048, 2020.

KIM, S. J. *et al.* Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 110, n. ½, p. 143-151, May 2004.

KLEIN, J. D.; COHEN, S.; HEBBE, U. Seasonal variation in rooting ability of myrtle (*Myrtus communis* L.) cutting. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 83, n. 1, p. 71-76, Jan. 2000.

KODAMA, K.; KIMURA, N.; KOMAGATA, K. Two new species of pseudomonas: *P. oryzihabitans* Isolated from Rice Paddy and Clinical Specimens and *P. luteola* Isolated from Clinical Specimens. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 35, n. 4, p. 467-474, Oct. 1985.

LARENTIS, L. T. *et al.* Presença de folhas no enraizamento de estacas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze. **Revista Eletrônica Científica Da UERGS**, Porto Alegre, v. 7, n. 1, p. 123-130, Apr. 2021.

LEPRINCE, O. *et al.* Late seed maturation: drying without dying. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 68, n. 4, p. 827-841, Feb. 2017.

LIEW, P. M.; YONG, Y. K. *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl: from traditional usage to pharmacological evidence. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, New York, v. 10, p. 1-7, Jan. 2016.

LINHARES, J. F. P.; ARAUJO, M. I. de; DIAS, J. P. Diversificação, associação e consorciação de plantas frutíferas no cerrado. *In*: DIAS, M. C.; MATA, A. **Cultivo de frutíferas em clima tropical**. Campina Grande: EPTEC, 2021. p. 114-122.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, Seattle, v. 30, p. 421-427, 1980.

MACHADO, T. M. *et al.* Comportamento fisiológico de sementes de *Cordia verbenacea* DC sob diferentes substratos, temperaturas e luz. **Naturalia**, Rio Claro, v. 34, p. 86-95, 2011. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/141232>. Acesso em: 22 out. 2018.

MAQUIAVELI, C. do C. *et al.* *Stachytarpheta cayennensis* extract inhibits promastigote and amastigote growth in *Leishmania amazonensis* via parasite arginase inhibition. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 192, p. 108-113, Nov. 2016.

MARTINS, W. A. *et al.* Estaquia e concentração de reguladores vegetais no enraizamento de *Campomanesia adamantium*. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 38, n. 1, p. 58-64, 2015.

MILLIKEN, W. *et al.* Plants used traditionally as antimalarials in Latin America: mining the Tree of Life for potential new medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v 279, p. 114221, Oct. 2021.

MOHAMMED, M. *et al.* Preliminary phytochemical screening and gastrointestinal study on the leaf extract of *stachytarpheta angustifolia* Mill Vahl (Verbenaceae) in Rabbit Jejunum. **Journal of Pharmaceutical Research International**, West Bengal, p. 1-9, Apr. 2019.

MORAIS, T. P. *et al.* Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 110-121, 2012.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NASSIF, S. M. L.; VIEIRA, I. G.; FERNANDES, G. D. Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes. **Acervo Histórico IPEF: informações técnicas**, Piracicaba, 2004. Disponível em: <http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.html>. Acesso em: 5 dez. 2018.

NOGUEIRA, N. W. *et al.* Emergence and initial development of *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. seedlings for different substrates. **Revista Agro@mbiente On-line**, Recife, v. 6, n. 1, p. 17-24, 2012.

OLIVEIRA, F. N. de *et al.* Temperaturas e substratos na germinação de sementes de pereiro vermelho (*Simira gardneriana* M. R. Barbosa & Peixoto). **Ciência Agrônômica**, Jaboticabal, v. 47, n. 4, p. 658-666, out./dez. 2016.

OLIVEIRA, G. L. *et al.* Enraizamento de estacas de *Lippia sidoides* Cham. utilizando diferentes tipos de estacas, substratos e concentrações do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 10, n. 4, p. 12-17, 2008.

PACHECO, J.P.; FRANCO, E. T. H. Ácido indolbutírico em diferentes diâmetros na estaquia de *Luehea divaricata*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1624-1629, set. 2008.

PAULA, V. de M. de. **Produção de mudas florestais por propagação vegetativa**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Paulista, Jaboticabal, 2016.

PÊGO, R. G. *et al.* Propagation of *Streptosolen jamesonii* (Benth.) Miers by stem cutting treated with IBA in different substrates. **Ornamental Horticulture**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 26-33, jan./mar. 2019.

PÊGO, R. G.; GROSSI, J. A. S. Biometry of fruits and seeds, seeds germination and postseminal development of areca palm. **Ornamental Horticulture**, Viçosa, v. 22, n. 2, p. 215-220, Sept. 2016.

PIMENTA, M. R. *et al.* Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae). **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 211-220, abr./jun. 2007.

QUADROS, K. M. de. **Multiplicação in vitro e ex vitro de *Ilex paraguariensis* A. Saint Hilaire (erva-mate)**. 2013. 99 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

RAJENDER, K. *et al.* Micropropagation of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl - A medicinally important plant. **Indian Journal of Biotechnology**, New Delhi, v. 11, n. 1, p. 105-107, Jan. 2012.

RIBEIRO, R. V. *et al.* Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 205, p. 69-102, June 2017.

ROSSETTO, C. A. V.; VIEGAS, E. de C.; NAKAGAWA, J. Germinação das unidades de dispersão de gervão-roxo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 114-118, jul. 2000.

SALIMENA, F. R. G. *et al.* *Verbenaceae*. In: FLORA e Funga do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB246>. Acesso em: 15 mar. 2018.

SALIMENA, F. R. G.; CARDOSO, P.H. *Lippia*. In: FLORA e Funga do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15170>. Acesso em: 15 mar. 2018.

SAMPAIO, M. F. *et al.* Influência de diferentes substratos associados a métodos de superação de dormência na germinação e emergência de sementes de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). **Revista Faro Ciência**, Porto Velho, v. 2, n. 1, p. 11-27, jan./jun. 2015.

SANTOS, R. G. *et al.* Tipo de estaca e substrato na propagação vegetativa de *Lippia gracilis* Schauer. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 83, p. 1-4, 2016.

SCHMITZ, J. A. K.; SOUZA, P. V. D. de; KÄMPF, A. N. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 937-944, dez. 2002.

SILVA, G. C. *et al.* Propagação vegetativa de alecrim-de-tabuleiro (Verbenaceae): uma espécie medicinal do semi-árido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 5973-5978, 2015. Suplemento.

SOARES, L. A.; SANTANA, L. C. L. de A. Predictive evaluation of in vitro growth of pathogenic bacteria under different conditions of pH, temperature and concentrations of sodium chloride and extracts of tamarind residues. **Research, Society and Development**, Oxford, v. 9, n. 7, p. 1-22, 2020.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. São Paulo: Artmed, 2017. 888 p.

THE BRAZIL FLORA GROUP (BFG); ZICKEL, C. S. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, out./dez. 2015.

THE R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2017.

**CAPÍTULO 3 DIFERENTES ESPECTROS LUMINOSOS AFETAM
CRESCIMENTO, ANATOMIA, TEOR DE MATABÓLITOS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE DE *Stachytarpheta sellowiana* SCHAUER, PLANTA MEDICINAL
AMEAÇADA DE EXTINÇÃO**

**DIFFERENT LIGHT SPECTRUM AFFECT GROWTH, ANATOMY,
MATABOLYTE CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF DE *Stachytarpheta
sellowiana* SCHAUER, ENDANGERED MEDICINAL PLANT**

RESUMO

A espécie *Stachytarpheta sellowiana* Schauer (Verbenaceae), conhecida popularmente como gervão, é uma planta com potencial medicinal, nativa do Brasil, que corre risco de extinção. Verifica-se que a luminosidade é um dos fatores ambientais que pode influenciar diretamente no crescimento, anatomia e produção de metabólitos das plantas. Objetivou-se avaliar a influência espectral da luz, transmitida por malhas fotoseletivas, no crescimento vegetativo, características anatômicas, metabólitos (pigmentos fotossintéticos, iridoide, fenóis, flavonoides totais) e capacidade antioxidante de *Stachytarpheta sellowiana*. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, cinco repetições, visto que cada parcela foi composta por cinco plantas (uma planta por vaso). Os tratamentos foram constituídos por plantas de gervão cultivadas sob malhas fotoseletivas de 50% de sombreamento (preta, vermelha e azul) e sob pleno sol (controle). Após 300 dias, verificou-se que as plantas cultivadas em pleno sol tiveram maior acúmulo de matéria seca quando comparado com os demais tratamentos. Já, para os parâmetros de área foliar, pigmentos fotossintéticos e comprimento do maior ramo, as plantas apresentaram maiores valores quando cultivadas sob as malhas azul e preta. Além disso, foram observadas diferenças significativas nas características anatômicas em todos os tratamentos. As plantas cultivadas sob a malha azul acumularam maior teor de iridoídes totais e indicaram maior capacidade antioxidante. Conclui-se que as malhas fotoseletivas exercem alterações no crescimento, anatomia, produção de metabólitos e capacidade antioxidante de plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas em vasos. A espécie pode ser cultivada sob pleno sol para a obtenção de maior matéria seca. No entanto, para maior produção de compostos antioxidantes e iridoídes, é indicado o cultivo sob malhas azuis.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Gervão roxo. Malhas coloridas. Compostos fenólicos. Iridoóides. Características anatômicas.

ABSTRACT

The species *Stachytarpheta sellowiana* Schauer (Verbenaceae) popularly known as ‘gervão’, is a plant with medicinal potential, native to Brazil, which is at risk of extinction. It is known that luminosity is one of the environmental factors that can directly influence the growth, anatomy and production of metabolites in plants. Aimed to evaluate the spectral influence of light transmitted by photosensitive meshes on vegetative growth, anatomical characteristics, metabolites (total photosynthetic pigments, iridoid, phenols and flavonoids) and antioxidant capacity of *Stachytarpheta sellowiana*. The design used was completely randomized, with four treatments, five replications, and each plot consisted of five plants (one plant per pot). The treatments consisted of ‘gervão’ plants grown under 50% shading (black, red and blue) and under full sun (control). After 300 days, it was found that plants grown in full sun had a greater accumulation of dry matter when compared to the other treatments. As for the parameters of leaf area, photosynthetic pigments and length of the largest branch, the plants showed higher values when cultivated under the blue and black meshes. In addition, significant differences in anatomical characteristics were observed in all treatments. Plants grown under the blue mesh accumulated higher total iridoid content and indicated higher antioxidant capacity. It is concluded that the photosensitive meshes exert alterations in the growth, anatomy, production of metabolites and antioxidant capacity of plants of *Stachytarpheta sellowiana* cultivated in pots. The species can be grown under full sun to obtain greater dry matter. However, for greater production of antioxidant and iridoid compounds, cultivation under blue meshes is indicated.

Keywords: Medicinal plants. Purple ‘Gervão’. Colored meshes. Phenolic compounds. Iridoids.

1 INTRODUÇÃO

A luz é uma fonte de energia essencial no processo da fotossíntese. Observa-se que as respostas das plantas, no processo de captação da energia luminosa, podem variar de acordo com o comprimento de onda, intensidade e direção de emissão. Além disso, a qualidade e intensidade luminosa são essenciais para que ocorra a conversão de energia para ser disponibilizada e captada no processo de fotossíntese (ALMEIDA; MUNDSTOCK, 1998; RIBEIRO, 2015; SOUZA *et al.*, 2011a).

A captação de luz ocorre em razão da presença dos fitocromos, o que pode desencadear diversas respostas fisiológicas particulares nas plantas (MUNEER *et al.*, 2014). Com a utilização de malhas fotosseletivas, pode-se melhorar a qualidade espectral da luz incidida e absorvida, contribuindo para maior eficiência fotossintética (SOUZA *et al.*, 2011a).

Essa alteração, no espectro luminoso, ocorre pela manipulação dos comprimentos de onda pela conversão da luz direta em luz difusa, o que pode ser benéfico para o aumento da produtividade em cultivos protegidos (JESUS; PELACANI; GUIMARÃES, 2020). Além disso, essas alterações podem afetar as respostas fisiológicas, anatômicas, crescimento e desenvolvimento (ATROCH *et al.*, 2001); e essas respostas são dependentes de alguns fatores e não só da presença ou ausência de luz, mas também do espectro da radiação (TAIZ *et al.*, 2017).

Para promover essas alterações na emissão e captação da radiação, foi introduzido um novo conceito agrotecnológico, o uso de malhas coloridas. Por meio de sua utilização, é possível alterar as respostas fisiológicas das plantas (RIBEIRO, 2015; SHAHAK *et al.*, 2004). Como exemplo do efeito de malhas coloridas, podemos citar o caso da malha preta, que tem efeito de redução da quantidade de luz, enquanto as malhas vermelha e azul alteram a composição da luz (AYALA-TAFOYA *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2010; LOBOS *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2016).

Além disso, essa transmissão de luz por malhas pode ocasionar estímulos diferentes, para algumas respostas fisiológicas, que são controladas pela luz, como, por exemplo, o conteúdo de clorofilas (BUTHELEZI *et al.*, 2016; ILIĆ; FALLIK, 2017; MARTÍNEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2016; RIBEIRO *et al.*, 2018). Além dessas alterações, podem ocorrer também alterações no crescimento das plantas, estimulando ou inibindo-o, bem como alterar sua anatomia foliar (BASTÍAS; CORELLI-GRAPPADELLI, 2012; BRANT *et al.*, 2009; MARTÍNEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2016).

A espécie *Stachytarpheta sellowiana* Schauer, pertencente à família Verbenaceae, é uma planta com potencial medicinal, nativa do Brasil e endêmica da região do cerrado, que se encontra em risco de extinção (CRUZ; SALIMENA, 2017; IUCN, 2017). Durante buscas na literatura, pelas bases de dados web of Science, Scopus e Scielo, não foram encontrados estudos agronômicos da espécie *Stachytarpheta sellowiana*.

Existe na literatura uma descrição botânica da espécie e, de acordo com Cruz e Salimena (2017), é considerada subarbusto, com média de 0,6 m de altura, ramificado, com ramos cilíndricos. Suas folhas são sésseis, com lâmina de 2-5 × 1-2 cm, coriáceas, obovadas, com ápice obtuso, margem serrilhada, base atenuada. Há também um estudo sobre a germinação de algumas espécies do gênero *Stachytarpheta* e, entre elas, estava a espécie *S. sellowiana*, a qual, de acordo com Santos (2008), a alternância de temperatura (15/30°C) aumentou a germinabilidade das sementes da planta.

Essa espécie, como outras espécies endêmicas do Brasil, ainda carece de estudos agronômicos, fitoquímicos e biológicos (AQUINO *et al.*, 2014). Neste sentido, torna-se necessário desenvolver técnicas de cultivo, que visem otimizar a sua produtividade bem como conhecer o seu comportamento fisiológico, morfológico e químico, para a sua conservação e exploração de seu potencial medicinal.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a influência espectral da luz transmitida por malhas fotosseletivas sobre o crescimento vegetativo, características anatômicas, produção de metabólitos (pigmentos fotossintéticos, iridoide, fenóis, flavonoides totais) e capacidade antioxidante de *Stachytarpheta sellowiana*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Crescimento vegetativo

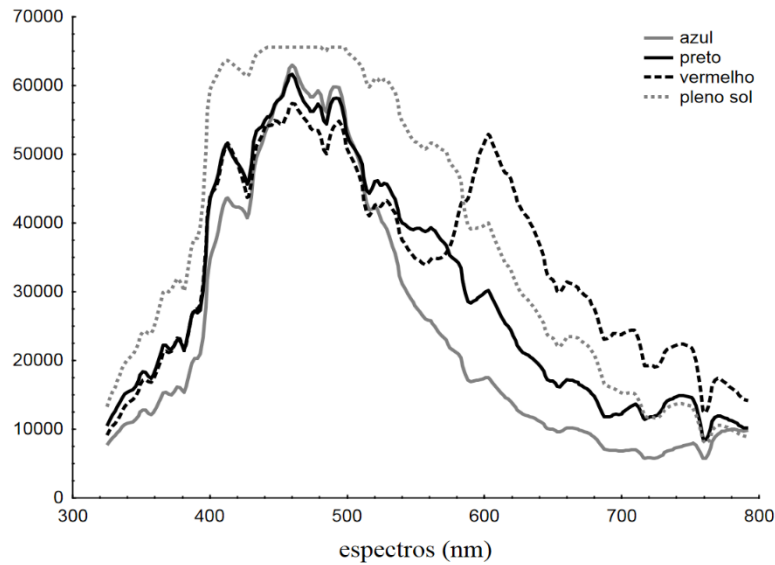
O experimento foi desenvolvido no Horto de Plantas Medicinais no Departamento de Agricultura, da Escola Superior de Agricultura, na Universidade Federal de Lavras (DAG/ESAL/UFLA), localizada na região Sul de Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas 21°14 ' S e 45°00 ' W, em 918 m de altitude, no período de janeiro a outubro do ano de 2020. Segundo a classificação de Köppen, o clima regional predominante, nessa região, é do tipo Cwa, com as características úmido com inverno seco e verão quente (BRASIL, 1992).

O material vegetal utilizado foi obtido de matrizes de *Stachytarpheta sellowiana*, oriundas da Serra do Campestre, nas coordenadas 21°14 ' S e 45°00 ' W, em 918 m de altitude, localizada no município de Lavras, Minas Gerais. Essa espécie foi registrada na Plataforma SisGen (Registro A97517C), de acordo com a Lei da Biodiversidade Brasileira nº 13.123 / 2015. A exsicata da planta matriz foi depositada no herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), sob o número de registro, PAMG 58889 (ANEXO B).

Mudas de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer foram produzidas, a partir de estacas nodais, do segundo ao quarto nó, preparadas em bandejas 128 células. Após 90 dias, as mudas foram transplantadas para vasos de plástico, com capacidade de 10 litros, contendo uma planta por vaso. O solo utilizado foi composto por solo do tipo subsolo horizonte B (latossolo vermelho distrófico) e areia, na proporção 1:1 (v/v), acrescida de 12 kg de esterco bovino m⁻², nessa mistura.

Os vasos foram mantidos em ambientes protegidos, incluindo malhas preta, azul e vermelha, com 50% de sombreamento e sob pleno sol (controle). Os espectros luminosos sob as malhas foram registrados por um espectrômetro manual SPECTRA PEN Z850 (Qubit Systems-Kingston, Ontario-Canadá), os quais estão apresentados na Figura 1. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos [malhas azul, preta e vermelha e sob pleno sol (controle)], cinco repetições e cinco plantas por repetição, totalizando 100 plantas.

Figura 1 - Perfis espectrais das malhas utilizadas no experimento com plantas de *Stachytarpheta sellowiana* Schauer.



Fonte: Da autora (2021).

As análises do solo foram realizadas no Laboratório de Análise Química e Física do Solo, do Departamento de Ciência do Solo, da UFLA. A análise do esterco orgânico foi realizada no Laboratório de Análise Agropecuária LTDA - 3r lab (Lavras - MG) (TABELA 1) O solo foi submetido a irrigações alternadas, de 500 mL.

Tabela 1 - Caracterização química do solo e do esterco bovino.

Característica	Solo	Esterco
pH em água (1:2,5)	5,6	8,2
Al+H (cmol _c .dm ⁻³)	2,1	
V(%)	23,4	
matéria orgânica (dag.kg ⁻¹)	1,4	-
N (mg.dm ⁻³)	-	18
P (mg.dm ⁻³)	0,6	5,1
K (mg.dm ⁻³)	14	13
Na (cmol _c .dm ⁻³)	-	1,5
Ca (cmol _c .dm ⁻³)	0,5	4,1
Mg (cmol _c .dm ⁻³)	0,1	3,2
S (mg.dm ⁻³)	-	2,6
B (mg.dm ⁻³)	-	5,6
Cu (mg.dm ⁻³)	-	39
Fe (mg.dm ⁻³)	-	128
Mn (mg.dm ⁻³)	-	461
Zn (mg.dm ⁻³)	-	150

Fonte: Da autora (2021).

Após 300 dias do transplântio (esse período foi determinado, a partir de observações quanto ao desenvolvimento das plantas, quando elas se encontraram mais estabilizadas e uniformes quanto ao seu crescimento), foram determinados os seguintes parâmetros: Comprimento da parte aérea (CPA, cm), matéria seca de raiz (MSR), matéria seca do caule (MSC), matéria seca das folhas (MSF), matéria seca total (MST) e área foliar (AF). Para determinar as matérias secas (g), as plantas foram colhidas e particionadas em raiz, caule e folha, as quais foram secas em circulação de ar a 45 °C até o material atingir peso constante.

A área foliar (AF) foi mensurada, utilizando um escâner EPSON PERFECTION V700 PHOTO e área foliar (AF) foi determinada pelo software WinFOLIA. Foram selecionadas cinco plantas representativas de cada tratamento, das quais avaliou-se a área foliar de 100 folhas. Em seguida, foram calculados os seguintes parâmetros, como a razão da área foliar (RAF = Razão entre a área foliar total e a matéria seca total de uma planta), área foliar específica (AFE= Razão entre a área foliar total e a matéria seca das folhas de uma planta) e a razão da massa foliar (RMF = Razão entre a matéria seca das folhas e a matéria seca total de uma planta) (BENINCASA, 2003; MATOS *et al.*, 2015).

2.2 Análise de pigmentos fotossintéticos

A extração e doseamento de pigmentos fotossintéticos seguiram o método desenvolvido por Hiscox e Israelstam (1979) com adaptações propostas por Barnes *et al.* (1992). Em resumo, inicialmente, procedeu-se à saturação do dimetilsulfóxido (DMSO) com carbonato de cálcio (CaCO₃) de acordo com a metodologia descrita por Santos (2008), com modificações. Assim, o DMSO foi saturado com carbonato de cálcio (CaCO₃), na proporção de 5 g L⁻¹ de DMSO, sob agitação constante por quatro horas e, então, filtrado duas vezes a vácuo em papel de filtro duplo. Posteriormente, a solução foi centrifugada a 6000 rpm por 10 min.

Em seguida as folhas frescas (50 mg) foram pesadas, diretamente em tubos de Falcon, cobertos com papel alumínio às quais foram adicionados 10 mL de DMSO saturado e, em seguida, os tubos foram incubados em estufa a 65 °C por 48 h. As amostras foram preparadas em quintuplicata.

Após este processo, três alíquotas de 3 mL de cada réplica foram transferidas para uma cubeta de quartzo, e os valores de densidade óptica em 480, 649 e 665 nm foram lidos em espectrofotômetro TECAN INFINITY M200 PRO, operado com o sistema de processamento de dados I-Control[®] (versão 3.37), contra DMSO saturado em branco. O valor de densidade óptica específica de cada amostra foi calculado pela média das leituras das três alíquotas.

Os comprimentos de onda e as equações utilizadas para os cálculos foram baseados na metodologia de Wellburn (1994), sendo:

$$\text{Clorofila } a_{649} = (12,47 \times A_{665}) - (3,62 \times A_{649});$$

$$\text{Clorofila } b_{665} = (25,06 \times A_{649}) - (6,5 \times A_{665});$$

$$\text{Carotenoides}_{480} = (1000 \times A_{480} - 1,29 \times C_a - 53,78 \times C_b)/220.$$

A clorofila total ($a + b$) foi calculada pelo somatório dos resultados encontrados das equações para clorofila a e b , sendo todos os resultados expressos em mg g^{-1} matéria fresca.

2.3 Teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidante

2.3.1 Preparo do extrato e condições gerais

Folhas desidratadas, conforme anteriormente descrito, para a análise de matéria seca, foram trituradas em moinho de facas e tamisado em peneira de 20 mesh. Em microtubos, foram pesados 50 mg de folhas secas trituradas e adicionaram-se 2 mL de MeOH:H₂O (1:1), os quais foram homogeneizados em vórtex por 5 segundos. Estes foram, então, submetidos à extração por sonicação (três ciclos de 15 minutos). Após cada ciclo de extração, os extratos foram microcentrifugados a 12.000 rpm por 10 minutos, sendo recolhidos e reunidos os sobrenadantes, os quais foram rotaevaporados a 40°C até a secura. Para proceder às leituras, os extratos foram ressuspensos em 1 mL do solvente álcool e água 1:1. As leituras de absorção molecular no ultravioleta foram mensuradas em leitor de microplacas TECAN INFINITY M200 PRO, operada com o sistema de processamento de dados I-control ® versão 3.37. Todos os tratamentos foram avaliados em quintuplicata.

2.3.2 Fenóis totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi feita pelo método de Folin Ciocalteu, de acordo com a metodologia descrita por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós, (1999), com as seguintes modificações: em microplacas de 96 poços foram adicionados 50 μL da amostra, 100 μL de solução etanólica de Folin-Ciocalteu (10%) e, após 2 min de reação, foram adicionados 125 μL de Na₂CO₃ (7,0%). As amostras foram mantidas por 20 minutos no escuro à temperatura ambiente, para posterior leitura. A absorbância foi lida a 760 nm. A curva de calibração foi constituída com padrão ácido gálico (Sigma-Aldrich®, 98%), na faixa de 0,7188 a 1,2316 mg mL^{-1} , gerando a equação $y = 2,2178 x - 0,1251$ ($R^2 = 0,9986$). Os resultados

foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de matéria seca de folha (mgEAG gMSF⁻¹).

2.3.3 Flavonoides totais

A quantificação de flavonas/flavonóis totais presentes nos extratos foi realizada, conforme a metodologia de Atanassova, Georgieva e Ivancheva (2011), com as seguintes modificações: a solução de AlCl₃ 10% foi preparada com 2g de AlCl₃ anidro e o volume foi completado para 20 mL com álcool 70%. Essa reação foi preparada, em banho de gelo e na capela, pois é uma reação exotérmica. Para as análises, foram pipetados 100 µL da amostra e 100 µL do reagente AlCl₃, em microplacas de 96 poços. As amostras foram mantidas sob proteção da luz por 40 min, seguidas da leitura em espectrofotômetro a 420 nm. O branco foi preparado com 100 µL da amostra + 100 µL de álcool 70%. A curva de calibração foi obtida, a partir do padrão quercetina (Sigma-Aldrich[®]-95%), diluído na faixa de 0,0625 a 1,0 mg mL⁻¹ ($y=3,72x+0,2596$, $R^2=0,9901$). Os resultados foram expressos em miligrama equivalente de quercetina por grama de matéria seca de folha (mgEQ gMSF⁻¹).

2.3.4 Capacidade antioxidante total (CAT)

A capacidade antioxidante total (CAT) foi avaliada, utilizando a metodologia de redução do molibdato (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999), com as seguintes modificações: em microtubos de 2 mL foram adicionados 200 µL do extrato de cada tratamento e 1,5 mL da solução reagente CAT (fosfato de sódio monobásico (28 mM), molibdato de amônio (4 mM) e ácido sulfúrico (0,6 M), em iguais proporções. Os microtubos foram incubados a 95°C por 90 minutos e, em seguida, resfriados à temperatura ambiente. Posteriormente, 200 µL das amostras foram pipetadas em microplacas de 96 poços e a absorbância mensurada a 695 nm. A CAT foi determinada, usando uma curva de calibração de ácido ascórbico (Sigma-Aldrich[®] 99,7%), nas concentrações de 0,3587 a 0,6470 mg mL⁻¹, cuja equação da reta foi $y=16,544x -0,1162$ ($R^2=0,9946$). Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido ascórbico por grama de matéria seca de folha (mgEAA gMSF⁻¹).

2.3.5 Atividade de eliminação de radicais livres (DPPH)

O método de captura do radical DPPH (2,2-difenil-2-picril-hidrazil) foi utilizado para a avaliação da capacidade antioxidante dos extratos, segundo metodologia de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), adaptado para uma microplaca de 96 poços. Para as análises, foi feita a solução do reagente de DPPH (0,2mM mL⁻¹), com metanol (MeOH). Cada amostra dos tratamentos foi diluída em MeOH:H₂O 1:1 até de 1/2 até 1/16, para gerar a curva de reação. Em microplacas de 96 poços, alíquotas de 260 µL da solução DPPH foram adicionadas a 20µL das amostras, as quais foram incubadas por 90 minutos no escuro e à temperatura ambiente. Posteriormente, a absorbância foi lida a 517 nm. A porcentagem de eliminação do radical DPPH foi calculada, a partir da fórmula: %AA = (A₀ - A₁)/A₀ x 100 em que A₀ corresponde à absorbância da solução etanólica de DPPH e A₁ corresponde à absorbância da solução DPPH + extrato expresso em % IC₅₀ (mg. mL⁻¹ de extrato).

2.3.6 Capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC)

A análise foi baseada no método de Ou, Hampsch-Woodill e Prior (2001), com as modificações: em microplacas pretas de 96 poços, foram adicionados 30 µL da amostra e 150 µL de fluoresceína (376,28 g/mol) preparada em tampão fosfato (75 mM e pH 7,4). A microplaca foi pré-incubada, durante 10 minutos, a 37°C. Após esse período, foram adicionados 30 µL do radical AAPH [2,2'-Azobis (2-amidinopropano) dihidroclorato] (12 mM), sendo a fluorescência registrada a cada minuto, por 150 minutos. Como controle, foi utilizado o padrão Trolox nas concentrações de 0,25 a 0,015625 mg mL⁻¹. Como branco foram utilizados 30 µL do tampão fosfato (75 mM e pH 7,4) em substituição ao AAPH. Os resultados foram calculados, usando uma equação de regressão entre a concentração de Trolox e a AUC (área sobre a curva) líquida (AUC amostra - AU Cbranco), sendo os valores de ORAC expressos como mg de equivalente de Trolox por grama de matéria seca da folha (mgET gMSF⁻¹).

2.4 Quantificação de iridóides totais

2.4.1 Preparo da amostra

A metodologia, para a quantificação de iridóides totais, seguiu o protocolo desenvolvido e validado por Rocha (2021) em nosso laboratório. Para o preparo da amostra, foram utilizados 10 mg de folhas pulverizadas, obtido conforme descrito no item 2.3.1, os quais foram pesados diretamente no microtubo de 2 mL. Em seguida, foi adicionado 1,5 mL de MeOH 70% (Metanol 7:3 Água) e sonicado por 10 minutos. Logo após, os microtubos contendo os extratos foram centrifugados a 12000 rpm, durante 10 minutos, o sobrenadante foi coletado e rotaevaporado a 40°C até a secura.

2.4.2 Reação de coloração e leitura das absorvâncias

Para a determinação quantitativa dos iridóides totais, foi adicionado ao resíduo da extração item 2.4.1 um volume de 1 mL de metanol 70%, seguido de sonicação até dissolução completa (1-2 min). A solução metanólica foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL e, em seguida, adicionados 9 mL de reativo de Trim-Hill (10 volumes de ácido acético glacial; 1 volume de solução de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,2%; 0,5 volumes de HCl concentrado). Logo em seguida, a solução de leitura foi transferida para tubos de ensaio de vidro e mantidos em banho-maria a 100°C por 5 minutos e, logo depois, arrefecidos em banho de água a 25°C (1-2 minutos). As leituras das absorvâncias a 622 nm foram mensuradas transferindo 280 μL das soluções de leitura para poço de uma microplaca de poliestireno. O branco foi obtido transferindo-se 1 mL de metanol 70% em 9 mL do reativo de Trim-Hill. A coloração azul indica presença de iridóides.

Para cada solução, elaborou-se uma solução de compensação, misturando-se 1 mL de solução hidrometanólica 70% da amostra obtida, conforme descrito anteriormente e diluindo para 9 mL de metanol 70%. As leituras das absorções a 622 nm das soluções de compensação foram mensuradas quanto ao metanol 70%. O valor de absorvância obtido, para a solução de compensação, foi então subtraído da leitura obtida pela amostra. As leituras foram realizadas em triplicata e os ensaios em sextuplicata. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de aucubina por grama de matéria seca de folha (mgEA gMSF^{-1}).

2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia descrita por Alves *et al.* (2008). Parte do material coletado anteriormente foi então transferido para o laboratório do setor de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (FIT/ESAL/UFLA), em que as folhas foram seccionadas em 0,5cm X 0,5cm (FIGURA 2) e fixadas em microtubos de 1,5 mL, com Karnovsky modificado (Glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05M, pH 7,2, CaCl₂ 0,001M). Os cortes foram preparados de forma que fosse possível observar as características das faces adaxial e abaxial.

Em seguida, as folhas foram desidratadas, em gradientes progressivos de acetona (25, 50, 75, 90 e 100%) por 10 minutos cada e submetidas à secagem ao ponto crítico (BAL-TEC, modelo CPD-030, Principality of Liechtenstein), montadas em *stubs* de alumínio com fita adesiva dupla-face, para, então, receber cobertura metalizada, em evaporador de ouro Sputtering (BAL-TEC, modelo SCD-050, Principality of Liechtenstein). Após a preparação das amostras, os *stubs* foram observadas, em microscópio eletrônico de varredura (LEO EVO 40 XP Carl Zeiss), em vista frontal, de ambas as faces da folha, onde foram capturadas as imagens.

O delineamento experimental foi o Inteiramente Casualizado (DIC), com cinco repetições, contendo três amostras por repetição, de cada um dos tratamentos (pleno sol, malha vermelha, malha preta e malha azul). Foram mensurados os seguintes parâmetros: densidade de tricomas totores (tt) e glandulares (grandes (tgg) e pequenos (tgp)) por unidade de área (mm²), comprimento dos tricomas totores (ctt), a densidade estomática (e) e os diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) dos estômatos.

2.6 Análise estatística

Após as avaliações dos experimentos, os dados foram coletados e submetidos à análise de variância, cujas médias foram comparadas entre si, usando o teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR 5.6. (FERREIRA, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento vegetativo

As malhas fotoseletivas comparadas ao tratamento controle (pleno sol) influenciaram significativamente as variáveis de respostas biométricas *Stachytarpheta sellowiana* (TABELA 2).

Tabela 2 - Análise de crescimento de plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob diferentes tipos de malhas coloridas e pleno sol.

Tratamento	CPA (cm)	MSF (g)	MSC (g)	MSR (g)	MST (g)
Pleno Sol	60,05 c	6,59 a	7,12 a	16,90 a	30,10 a
Vermelha	100,60 a	5,20 b	6,94 a	9,79 b	22,86 b
Preta	88,60 b	4,91 b	5,54 b	8,75 b	19,89 c
Azul	100,30 a	5,02 b	6,32 b	7,35 c	19,09 c

Fonte: Da autora (2021).

Legenda: CPA: Comprimento da parte aérea, Matéria seca da folha (MSF), Matéria seca do caule (MSC), Matéria seca da raiz (MSR), Matéria seca total (MST). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferenciam entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Skot knott.

O comprimento da parte aérea apresentou maiores valores, quando as plantas foram cultivadas sob radiação de malha vermelha (100,60 cm) e malha azul (100,30 cm), não havendo diferenças significativas entre si. Na Figura 2, pode-se observar que as plantas sob malhas azul, vermelha e preta apresentaram maior alongamento quando comparadas às de pleno sol.

Entretanto as pesquisas de Ribeiro *et al.* (2018) com *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (Lamiaceae) constataram maior produção de massa seca de folha, raiz, caule e total sob o cultivo com malhas vermelhas.

As plantas, quando em ambientes pouco iluminados, tendem a investir mais no crescimento em altura, pela alta atividade das auxinas e busca pela luz (CARVALHO *et al.* 2009; TAIZ *et al.*, 2017). Esse processo é chamado de estiolamento (FRANCO; DILLENBURG, 2007). Como o maior investimento em altura das plantas foi sob a utilização de malhas, infere-se que esse crescimento foi em virtude do estiolamento. Além disso, o estiolamento é um recurso muito utilizado pelas plantas daninhas, para aumentar a captação de luz (CARVALHO *et al.*, 2017), e as plantas do gênero são consideradas daninhas, o que justifica também essa tendência ao estiolamento sob baixas intensidades luminosas.

Figura 2 - Plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob diferentes tipos de malhas fotoseletivas e pleno sol, após 300 dias de cultivo.



Fonte: Da autora (2020).

Quanto ao acúmulo de matéria seca, observou-se que as plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob pleno sol, independente do órgão da planta, apresentaram os maiores incrementos (TABELA 2). Apenas a matéria seca de caule na malha vermelha não foi estatisticamente diferente daquela do pleno sol. Na Figura 2, pode-se observar maior volume de raízes no tratamento a pleno sol e maior volume de ramos da parte aérea (FIGURA 2).

Já Alves *et al.* (2018) detectaram maior massa seca das folhas de *Lippia alba* sob o cultivo em malhas azuis e maior massa seca de raiz a pleno sol.

O acúmulo de matéria seca, nas plantas de *Stachytarpheta sellowiana*, cultivadas a pleno sol, pode estar relacionado ao ambiente de alta intensidade luminosa a que a planta está adaptada. O habitat de origem dessas plantas são campo rupestre e cerrado, onde recebem muita luz durante todo o período diurno. Em contrapartida, os menores valores de peso seco, nas plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob malhas, podem ser explicados pela diminuição da radiação, pois pode haver redução na emissão de sinais que regulam o

desenvolvimento das plantas, em ambientes com limitação de luz, impactando a assimilação e translocação de nutrientes o que afeta as características morfológicas, anatômicas e fisiológicas das plantas (REZAEI *et al.*, 2019).

Os espectros de luz vermelha e azul podem ter impactado no crescimento das plantas, pois são as principais fontes de assimilação fotossintética de CO₂ (TAIZ *et al.*, 2017). Além disso, pelas baixas intensidades luminosas, ocorreu o estiolamento das espécies.

A alta eficiência energética do ciclo de Calvin indica que alguma forma de regulação garante que todos os intermediários estejam em concentrações adequadas e que o ciclo seja desligado, quando não se faz necessário, durante o período do escuro. Variedades na concentração ou na atividade enzimática podem modular as taxas catalíticas alterando os níveis de metabólitos no ciclo. Quando na ausência de luz, os resíduos dissulfitos estão no estado oxidado, o que deixa as enzimas inativas e, conseqüentemente, indisponibiliza a glicose, para a planta, afetando todo o seu desenvolvimento (TAIZ *et al.*, 2017).

A maior média da área foliar foi encontrada em plantas cultivadas sob malha azul (13,06 cm²). Comparadas às plantas cultivadas sob malha azul, as plantas cultivadas sob pleno sol apresentaram uma redução de 57,6% da área foliar (TABELA 3).

Tabela 3 - Análise de crescimento de plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob diferentes tipos de malhas coloridas e pleno sol.

Tratamento	AFT (cm²)	AFE (cm²/g)	PEF g/cm²	RAF (cm²/g)	RPF (g/g)
Pleno Sol	7,52 b	1,16 b	0,91 a	0,23 d	0,48 a
Vermelha	10,26 b	2,16 a	0,52 c	0,46 b	0,42 a
Preta	6,99 b	1,51 b	0,75 b	0,36 c	0,46 a
Azul	13,06 a	2,60 a	0,41 c	0,69 a	0,45 a

Fonte: Da autora (2021).

Legenda: (AFT) área foliar total; (AFE) área foliar específica; (RAF) razão de área foliar; (RPF) razão de peso foliar. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferenciam entre si pelo teste de Skott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Quando as plantas estão sob baixos níveis de irradiância, como, por exemplo, sob malhas azuis, podem aumentar sua área foliar para acentuar a captação de radiação luminosa e atingir maior eficiência fotossintética (TAIZ *et al.*, 2017). Quando em ambientes de sombreamento, as folhas desenvolvem uma característica própria. Há um incentivo para o aumento da área foliar, com o intuito de promover melhor aproveitamento da fotossíntese, já que os níveis de luminosidade são menores, aproveitando melhor, desta forma, as baixas intensidades luminosas (BRANT *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2011a).

As plantas que estão sob ambientes sombreados investem maior proporção de fotoassimilados, para aumentar a área foliar, a fim de maximizar a captação da luz disponível. Elas geralmente dispõem de folhas delgadas, com maior área foliar específica (AFE) (LAMBERS; CHAPIM; PONS, 1998). Esse fenômeno corrobora com os resultados do presente trabalho, pois os tratamentos que proporcionaram maior área foliar, também, obtiveram maior área foliar específica (malha azul $2,60 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ e malha vermelha $2,16 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, Tabela 3). Maior área foliar específica implica que a folha é mais fina.

Área foliar específica pode ser utilizada para estimar a taxa de assimilação fotossintética. Em condições de cultivo a pleno sol, observa-se menor valor de AFE ($1,16 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) das plantas em relação às malhas. Isso pode inferir que houve maior retenção de matéria seca, na folha no ambiente a pleno sol que nas malhas. Esse fato pode ser observado pelo maior acúmulo de matéria seca da folha a pleno sol (TABELA 2).

A determinação da área foliar específica (AFE), calculada a partir da razão entre área foliar e matéria seca da folha, pode ser um parâmetro, para quantificar as estratégias de aclimatação, principalmente a alocação diferencial de recursos, para a fotossíntese realizada em decorrência das condições ambientais (EVANS; POORTER, 2001; GÚZMAN; BAKKER; RODRIGUES, 2013; PINHEIROS *et al.*, 2006; SULTAN, 2004).

Lemos *et al.* (2011) comentam que AFE indica se as plantas utilizam alternativas conservativas ou aquisitivas para a utilização dos recursos ambientais. E as condições do ambiente que determinam a redistribuição dos recursos nutricionais para os tecidos para que ocorra o crescimento e defesa em situação de estresse ambiental (LAMBERS; CHAPIM; PONS, 1998). Benincasa (2003) relata que o inverso da AFE indica a espessura da folha, que é o peso específico da folha ($\text{PEF} = \text{MSF}/\text{AFT}$). Nas plantas cultivadas em pleno sol, obteve-se maior PEF ($0,91 \text{ g cm}^{-2}$) e sob a malha azul o menor PEF ($0,41 \text{ g cm}^{-2}$), indicando que as plantas apresentaram maior e menor espessura foliar, respectivamente. Já o trabalho de Ribeiro *et al.* (2018) verificou maior espessura foliar de *Pogostemon cablin* quando cultivadas sob malhas vermelhas.

Folhas que se desenvolvem sob baixas intensidades luminosas tendem a ser mais finas e apresentam menos massa seca foliar, o que aumenta sua área foliar específica e conseqüentemente a interceptação de luz (VALLADARES; NIINEMETS, 2007). Esses dados corroboram com o menor acúmulo de matéria seca apresentado pelas plantas de *Stachytarpheta sellowiana*, apresentado na Tabela 2 e discutido anteriormente. O alto valor da AFE, no ambiente de menor luminosidade, também pode estar relacionado com a redução do

investimento em estruturas como a epiderme, que auxiliam as plantas em seus mecanismos de proteção contra a fotoinibição (PEARCY, 2007).

Ao contrário de plantas crescidas à sombra, plantas, quando se desenvolvem em ambientes de alta luminosidade, têm tendência a ser mais espessas e com menor área, manifestando um mesófilo mais compacto, apresentando espaços intercelulares menores (FERNANDES *et al.*, 2014). *S. sellowiana* cultivada sob pleno sol desenvolveu folhas com menor área foliar, porém mais espessas, enquanto as folhas cultivadas sob malha azul apresentaram área foliar maior com suas folhas menos espessas.

A folha é o órgão responsável por funções vitais, tais como fotossíntese, respiração, transpiração, condução e fluxo de seiva. Cada malha colorida emite um comprimento de onda específico, portanto o limbo foliar vai absorver diferentes quantidades de radiação, o que vai influenciar diretamente na absorção de CO₂, que é essencial para o processo de fotossíntese (LEWIS, 1972; TAIZ *et al.*, 2017).

O aumento da razão da área foliar (RAF), nas plantas cultivadas sob malha azul (0,69 cm².g⁻¹), foi 300% maior que o controle (pleno sol) (TABELA 3). Esse fator pode ter sido uma estratégia utilizada pelas plantas para se adaptar aos baixos comprimentos de onda. Esse resultado é uma indicação de que plantas de *Stachytarpheta sellowiana*, cultivadas sob malha, necessitam de uma área foliar maior para produzir certa quantidade de matéria seca em comparação às plantas cultivadas a pleno sol. Chagas *et al.* (2013) verificaram que, no segundo corte de plantas de *Mentha pipertia* L., quando no cultivo sob as malhas vermelha e azul, apresentaram maiores áreas foliares. Quando a folha está com maior área, ela geralmente tem menor espessura, que aumenta a superfície de contato com os raios solares, compensando a baixa luminosidade (TAIZ *et al.*, 2017).

As folhas produzem 90% dos assimilados e daí translocam para toda a planta. Benincasa (2003) reporta que a razão do peso de folha (RPF = MSF/MSPárea) expressa a fração de matéria seca não exportada das folhas para o resto da planta. Essa exportação maior ou menos de matéria foliar é uma característica genética que está sob a influência da variação do ambiente. Observa-se, na Tabela 3, que não houve diferença significativa entre os ambientes de cultivo.

Assim, a tolerância das folhas por sombreamento pode resultar em órgãos adaptados a diferentes condições ambientais (folhas de sol e folhas de sombra) (MENEZES; SILVA; PINNA, 2009). A funcionalidade das folhas está relacionada às condições de luz no ambiente. Esses aspectos podem influenciar no desenvolvimento e na captação de recursos, como água e nutrientes por intermédio da folha e influenciar no desenvolvimento da planta (KEENAN; NIINEMETS, 2016; ZHANG *et al.*, 2020). Quando em baixa luminosidade, as plantas investem

mais em fotoassimilados e outros recursos, para que ocorra o aumento da área foliar, com o objetivo aumentar a captação da luz incidente e aumentar a eficiência fotossintética da planta (GOBBI *et al.*, 2011). Para a razão de massa foliar, os tratamentos não proporcionaram diferenças significativas.

3.2 Pigmentos fotossintéticos

A eficiência do crescimento da planta está relacionada à capacidade desta de adaptação às condições luminosas do ambiente. As determinações quantitativas dos pigmentos fotossintéticos por unidade de peso fresco revelaram que o cultivo das plantas, sob malha azul e preta, promoveram um aumento na concentração de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides nas folhas de *Stachytarpheta sellowiana* (TABELA 4). Esses dados corroboram com os de Oliveira *et al.* (2016), em que a planta *Melissa officinalis* apresentou maiores valores de clorofilas quando cultivadas sob malhas azuis.

Plantas de Maria preta (*Solanum americanum* Mill), considerada daninha e medicinal, desenvolvem-se melhor sob condições intermediárias de sombreamento (AUMONDE *et al.*, 2013). Segundo Almeida *et al.* (2005), o maior acúmulo de clorofila, quando há sombreamento, pode ocorrer para compensar a menor quantidade de radiação disponível.

Tabela 4 - Quantificação de pigmentos em plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob diferentes tipos de malhas coloridas e pleno sol.

Tratamento	Clorofila a (mg/g)	Clorofila b (mg/g)	Carotenoides (mg/g)	Clorofila (mg/g)	Total
Pleno Sol	0,57 b	0,14 c	0,17 b	0,72 c	
Vermelha	0,61 b	0,17 b	0,16 c	0,78 b	
Preta	0,74 a	0,20 a	0,19 a	0,93 a	
Azul	0,75 a	0,19 a	0,18 a	0,94 a	

Fonte: Da autora (2021).

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferenciam entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo do teste de Skot knott.

Sendo assim, a qualidade luminosa interfere diretamente na fotossíntese, sendo necessário que a planta se adapte a um determinado ambiente com um comprimento de onda específico de luz. A esse processo é dado o nome de aclimação fotossintética à luz (KERBAUY, 2019).

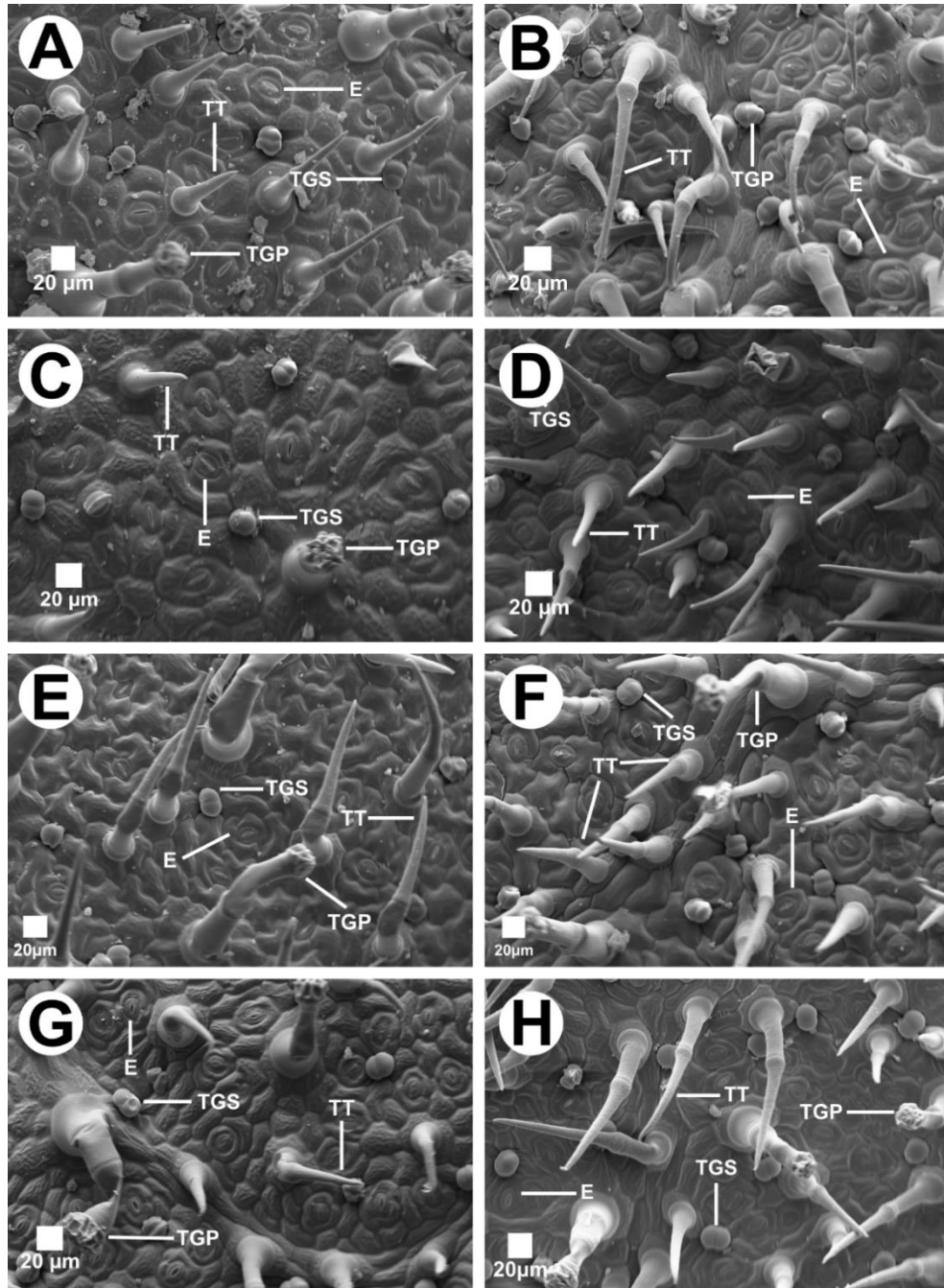
Os carotenoides são encontrados em todas as espécies que realizam a fotossíntese. Eles absorvem a luz na região dos 400 - 500nm, o que lhes confere a coloração laranja, são considerados pigmentos acessórios, pois a luz que absorvem é transferida para as clorofilas para realizar o processo de fotossíntese. Além disso, são também considerados fotoprotetores contra danos oxidativos. Ao absorver a luz, eles transferem a energia absorvida para a clorofila que transfere para uma molécula de clorofila a, que finalmente será utilizada para a realização da fotossíntese (TAIZ *et al.*, 2017).

3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

O cultivo de *Stachytarpheta sellowiana* sob os diferentes ambientes luminosos proporcionou alterações anatômicas significativas na lâmina foliar (FIGURA 3 e TABELA 5). Tricomas capitados glandulares e tectores, bem como estômatos, foram observados, em ambas as faces da epiderme, podendo considerar a folha como anfiestomática, sendo essas estruturas mais abundantes na face abaxial (FIGURA 3-A e 3-B).

Em relação às características dos tricomas, as folhas de *S. sellowiana* apresentaram tricomas capitados e tricomas peltados e estômatos na sua maioria diacíticos (FIGURA 3). Tanto para a parte adaxial quanto abaxial, o número de tricomas tectores foi maior na malha preta (269,05 e 869,0, respectivamente) (TABELA 5, FIGURA 3-E e F).

Figura 3 - *Stachytarpheta sellowiana*: Eletromicrografia de Varredura da face adaxial e abaxial das folhas.



Legenda: A = Pleno sol adaxial; B = Pleno sol abaxial; C = Malha vermelha adaxial; D = Malha vermelha abaxial; D = Malha vermelha adaxial; E = Malha preta abaxial; F = Malha preta adaxial; G = Malha azul adaxial; H = Malha azul abaxial; TT = Tricoma tector; TC = Tricoma captado; TGP = Tricoma glandular peltado; TGS = Tricoma glandular septado; E = Estômato.

Fonte: Da autora (2021).

O número de tricomas glandulares septados para a parte adaxial foi maior nos tratamentos com malha vermelha (152,89) (FIGURA 3-C) e malha preta (144,39) (FIGURA 3-E). Resultados opostos foram constatados por Barbosa *et al.* (2021), em que maiores números

de tricomas glandulares em *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng. (Lamiaceae), foram encontrados quando as plantas foram cultivadas em pleno sol. Já na parte abaxial, o número de tricomas glandulares septados não apresentou diferenças estatísticas significativas, nos tratamentos a pleno sol (445,9) (FIGURA 3-B), na malha vermelha (411,93) (FIGURA 3-D) e malha azul (407,68) (FIGURA 3-H).

Tabela 5 - Características anatômicas das plantas de *Stachytarpheta sellowiana*, cultivadas sob malhas coloridas e pleno sol.

Tratamento	NTT	NTGS	NTGP	NE	DEE (µm)	DPE (µm)	DPE/DEE
Adaxial							
Pleno Sol	169,87 b	114,67 b	42,47 a	348,23 b	177,81 a	191,79 a	1,18 a
Vermelha	140,14 b	152,89 a	46,71 a	411,93 b	107,51 b	129,88 b	1,15 a
Preta	269,05 a	144,39 a	29,73 a	632,75 a	113,64 b	132,49 b	1,18 a
Azul	97,67 b	101,92 b	16,99 a	314,25 b	124,56 b	143,19 b	1,08 a
Abaxial							
Pleno Sol	595,53 c	445,9 a	152,88 b	59,45 a	89,82 b	104,73 b	1,22 a
Vermelha	798,37 b	411,93 a	216,58 a	76,44 a	95,24 b	115,35 b	1,15 a
Preta	896,05 a	284,53 b	242,06 a	63,70 a	144,80 a	172,94 a	1,22 a
Azul	450,15 d	407,68 a	80,69 c	33,97 a	93,11 b	106,01 b	1,17 a

Fonte: Da autora (2021).

Legenda: (NTT: Número de tricomas tectores, NTGS: Número de tricomas glandulares septados, NTGP: Número de tricomas glandulares peltados; NE: Número de estômatos; DEE: Diâmetro equatorial do estômato; DPE: Diâmetro polar do estômato). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferenciam entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Skot Knott.

O número de tricomas glandulares peltados não apresentou diferença estatística para a parte adaxial. Entretanto, na parte abaxial, o número de tricomas glandulares peltados foi maior no tratamento de malha vermelha (216,58) (FIGURA 3-D) e malha preta (242,06) (FIGURA 3-F). O número de estômatos da parte adaxial foi maior na malha preta (632,75) (FIGURA 3-E). Na parte abaxial, não apresentou diferenças significativas. O diâmetro equatorial (DEE), quanto ao diâmetro polar (DPE) dos estômatos, da parte adaxial, foi maior em pleno sol (177,81 µm e 191,79 µm, respectivamente) (FIGURA 3-A).

Os estômatos da parte abaxial apresentaram diâmetro equatorial e polar maior em malha preta (144,80 µm e 172,94 µm, respectivamente) (FIGURA 3-F). Segundo Oren-Shamir *et al.* (2001), a malha preta pode ser considerada neutra, uma vez que auxilia somente na redução da incidência da radiação sobre as plantas, não interferindo na qualidade da radiação. As respostas fotomorfogênicas, que abrangem o desenvolvimento dos estômatos, são resultados de uma complexa rede de processos fisiológicos sensíveis à luz, ou seja, são diretamente influenciadas por elas (KAMI *et al.*, 2010).

A relação diâmetro polar do estômato e diâmetro equatorial do estômato (DPE/DEE) não apresentou diferenças estatísticas, porém obteve maiores valores sob pleno sol e sob malha preta, tanto para a parte adaxial, quanto para a parte abaxial (1,88; 1,18; 1,22 e 1,22, respectivamente). Quanto maior o valor encontrado para DPE/DEE mais elipsoides são os estômatos, quanto mais elipsoides mais funcionalidades apresentam (MARTINS *et al.*, 2009).

3.4 Teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidante

As plantas são altamente expostas a danos por condições ambientais adversas, e isso tem um efeito negativo sobre a sua produtividade, desenvolvimento e sobrevivência. Essas condições prejudiciais aumentam o conteúdo de espécies reativas de oxigênio (EROs), como radicais O_2^- (superóxido), radicais OH (hidroxila), O_2 (oxigênio singleto) e H_2O_2 (peróxido de hidrogênio). Os EROs são espécies químicas citotóxicas capazes de impossibilitar o metabolismo normal de proteínas, lipídios e ácidos nucleicos pelos danos oxidativos.

Por uma ação conjunta dos sistemas de defesa antioxidantes não enzimáticos (carotenoides, flavonoides, antocianinas e outros) e enzimáticos (ascorbato peroxidase, catalase, glutathione redutase, superóxido dismutase e, outras), as plantas são capazes de reduzir o dano oxidativo em seus tecidos (GOHARRIZI *et al.*, 2020). Moléculas não enzimáticas têm sido estudadas em uma ampla gama de contextos científicos (biotecnologia, produção agrícola, biologia do desenvolvimento, ecotoxicologia, evolução, saúde humana) (CAVALCANTI *et al.*, 2021; COELHO *et al.*, 2021; FERRAZ; CHAGAS; DORIGON, 2020; IRATO; SANTOVITO, 2021; MIAMOTO *et al.*, 2020; VICENTE *et al.*, 2020).

Visto a importância dessas moléculas do metabolismo secundário das plantas, as quais não apenas contribuem para a defesa antioxidante das plantas, mas também podem ser responsáveis por efeitos protetores e/ou terapêuticos, foram doseados compostos fenólicos, flavonoides e iridoides totais e a capacidade antioxidante das plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob diferentes malhas coloridas.

Os maiores teores de fenóis (66,5 mg/g) e flavonoides (0,70 mg/g) foram observados no tratamento sob pleno sol (TABELA 6). As plantas de *Stachytarpheta sellowiana* cultivadas sob pleno sol também indicaram possuir maior capacidade de captura dos radicais livres DPPH ($IC_{50}=0,02$ m/g) e de absorção do radical oxigênio (ORAC, 263,79 mgET gMSF⁻¹) (TABELA 6). O DPPH avalia a capacidade antioxidante pela captura do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), enquanto o ORAC é um método que afere a capacidade antioxidante

total de uma amostra por radicais peroxilas gerados a partir do azo-iniciador AAPH e como substrato oxidável à fluoresceína (BOROSKI *et al.*, 2015).

A luz desempenha um papel importante na biossíntese de muitos antioxidantes, como carotenoides, flavonoides, antocianinas, entre outros (ILIC *et al.*, 2017). As folhas podem conter altos valores de flavonoides (flavonas e flavonóis) os quais agem na proteção da célula contra o excesso de radiação. O aumento da exposição de plantas à luz UV-B resulta numa maior síntese de flavonas e flavonóis (TAIZ *et al.*, 2017). Trabalhos comprovam que plantas cultivadas sob luz solar direta apresentam maiores teores de substâncias fenólicas e flavonoides, demonstrando a importância da radiação UV na biossíntese dos flavonoides. Além disso, há uma correlação positiva bem estabelecida entre a intensidade luminosa e a produção de substâncias fenólicas. Essas substâncias possuem alta capacidade de absorver luz e, desta forma, protegem a planta contra os danos induzidos pela radiação UV (PINHEIRO *et al.*, 2017).

A forte correlação em teor de compostos fenólicos e flavonoides com o ensaio ORAC foi demonstrada por Tian *et al.* (2018), em estudos de fracionamento de extratos de oito diferentes frutos de bagas, como mirtilo, oxicoco e outros. Um vasto número de pesquisas prévias também tem correlacionado a habilidade dos compostos fenólicos em capturar os radicais livres DPPH (LIRA *et al.*, 2021; SILVA; MOURÃO, 2022; SOUZA; FASSINA; SARAIVA, 2018). No estudo realizado por Alves *et al.* (2018) com *Lippia Alba*, também, obtiveram maiores influências no metabolismo secundário, quando cultivadas sob pleno sol. Houve maior produção de óleo essencial, no qual foi encontrada maior quantidade de compostos.

Tabela 6 - Análise de Fenóis totais, flavonoides, iridoides e testes antioxidantes das plantas de *Stachytarpheta sellowiana*, cultivadas sob malhas coloridas e pleno sol.

Tratamento	FT (mgEAG gMSF ⁻¹)	FlaT (mgEQ gMSF ⁻¹)	CAT (mgEAA gMSF ⁻¹)	ORAC (mgET gMSF ⁻¹)	DPPH (% IC ₅₀ mg mL ⁻¹)	IT (mgEA gMSF ⁻¹)
Pleno Sol	66,5 a	0,70 a	90,08 b	263,79 a	0,02 a	279,06 c
Vermelha	53,38 b	0,48 b	81,65 c	171,26 b	0,05 b	235,48 d
Preta	36,59 c	0,48 b	75,85 d	162,25 b	0,07 c	418,02 b
Azul	51,85 b	0,41 c	105,62 a	174,17 b	0,07 c	758,99 a

Fonte: Da autora (2021).

Legenda: Médias seguidas pelas mesmas letras não diferenciam entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Skott knott. FT: (fenóis totais expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de matéria seca de folha; FlaT: flavonoides totais expressos em miligrama equivalente de quercetina por grama de matéria seca de folha; CAT: capacidade antioxidante total expressa em miligramas equivalentes de ácido ascórbico por grama de matéria seca de folha; ORAC: Capacidade de absorção do radical oxigênio expresso como mg de equivalente de Trolox por grama de matéria seca da folha; DPPH: porcentagem de eliminação do radical DPPH expressa em % IC₅₀ (mg. mL⁻¹ de extrato); IT: iridoides totais expressos em miligramas de equivalentes de aucubina por grama de matéria seca de folha (mgEA gMSF⁻¹).

Enquanto os compostos fenólicos indicaram ter maior atividade antioxidante pelos métodos de captura de radicais DPPH e ORAC, os iridoides podem estar relacionados com a capacidade antioxidante total (CAT). Observa-se, na Tabela 6, que o maior teor de iridoides totais (758,99 mgEA gMSF⁻¹) e CAT (105,62 mgEAA gMSF⁻¹) foram maiores sob malha azul. O método CAT baseia-se na redução do molibdênio (VI) a molibdênio (V) pelos antioxidantes e a subsequente formação de um complexo de fosfato verde Mo (V) em pH ácido. A transferência de elétrons que ocorre neste ensaio depende da estrutura do antioxidante (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999).

Os iridoides são compostos monoterpnoídicos que são distribuídos em diversos grupos de plantas como compostos do metabolismo secundário (WANG *et al.*, 2020). No gênero *Stachytarpheta*, o composto iridoide ipolamiida foi reportado em várias espécies, incluindo *S. jamaicensis* (RODRIGUEZ; CASTRO, 1996), *S. cayennensis* (FUTURO; KAPLAN, 1998; SCHAPOVAL *et al.*, 1998), *S. indica* (GANAPATY *et al.*, 1998; ROENGSUMRAN *et al.*, 2002), *S. australis* (AKISUE *et al.*, 1981), *S. guyanensis* (GARNER, 1997) e *S. mutabilis* (LUCA, 1980). Relatos da literatura sobre a ipolamiida isolada de *S. cayennensis* e de outras espécies já apontaram atividades anti-inflamatórias (SCHAPOVAL *et al.*, 1998); antimicrobianas (HANWA *et al.*, 2017) e atividades antileishmanicidas *in vitro* e *in silico* (VENDRUSCOLO *et al.*, 2019). Diversas pesquisas também têm apontado atividade

antioxidante de outros iridoides isolados (KLYMENCO *et al.*, 2021; LU *et al.*, 2016; NERINUMA *et al.*, 2020).

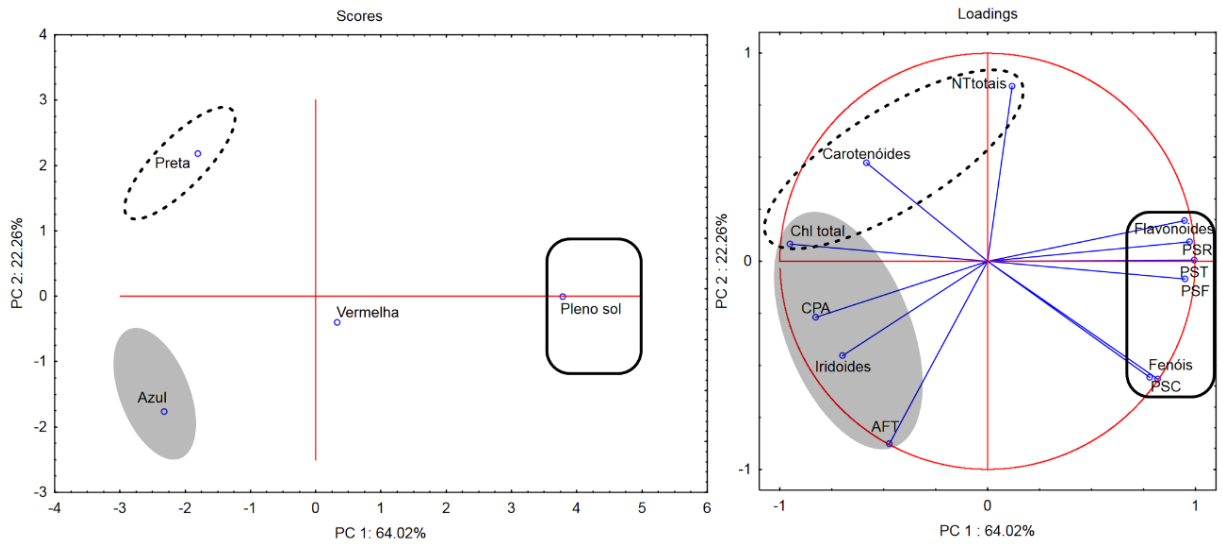
No trabalho de López-Vázquez (2019) verificou-se que, quando se utilizou UV nas plantas de *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae), esse tratamento inibiu a produção de iridoides, dado esse que corrobora com o atual estudo, em que maiores teores do metabólito foram constatados sob cultivo de sombreamento com malha azul. Essa classe de metabólitos pode ser um fator adaptativo, seja na dispersão de sementes ou proteção contra predadores (WHITEHEAD; TIRAMANI; BOWERS, 2016). Os iridoides já têm sido relatados como substâncias de defesa por apresentarem efeito tóxico pós-ingestão (BIERE; MARAK; VAN DAMME, 2004).

3.5 Análise dos componentes principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) permite a redução da dimensionalidade dos parâmetros avaliados pela representação do conjunto de dados, em um novo sistema de eixos, denominados Componentes Principais (PC), possibilitando a visualização da natureza multivariada dos dados em poucas dimensões. A PCA foi aplicada, em 12 dados do presente estudo, com o propósito de identificar as interações existentes entre as variáveis de respostas e as malhas coloridas. A Figura (4) da PCA apresenta a correlação matricial entre crescimento vegetativo (área foliar total - AFT, comprimento da parte aérea - CPA, peso seco de folha - PSF, caule - PSC, raiz - PSR, total - PST), flavonoides, fenóis, pigmentos fotossintéticos (clorofila total, carotenoides), iridoides e número de tricomas totais (NT_{totais}), explicando 86.28% da variação total. Assim, com o uso das PC1 e PC2, foi possível identificar a separação dos tratamentos em três grupos, em que é possível observar uma diferenciação entre plantas: Grupo 1: cultivadas a pleno sol; Grupo 2: cultivadas sob malha preta; Grupo 3: cultivadas sob malha azul.

A PCA destaca que as plantas cultivadas a pleno sol influenciaram positivamente sobre o teor de flavonoides, fenóis e no peso seco de folha (PSF), raiz (PSR), caule (PSC) e total (PST). As plantas cultivadas sob malha preta influenciaram positivamente sobre as variáveis: carotenoides, clorofila total e número de tricomas totais (NT_{totais}). Sob a malha azul, houve maior influência positiva na área foliar total (AFT), comprimento da parte aérea (CPA), teor de iridoides e clorofila total. Sendo assim, os resultados da PCA corroboram e complementam as análises e interpretações anteriores.

Figura 4 - Gráfico de *scores* e *loadings* da análise de componentes principais (PCA), na construção de correlação matricial, usando dados de Peso Seco de Folha (PSF); Peso Seco de Raiz (PSR); Peso Seco do Caule (PSC) Peso Seco Total (PST); Flavonoides, Fenóis, Teor de Iridoides, Carotenoides, Clorofila Total; Número de Tricomas Totais (NTtotais) e a Área Foliar Total (AFT) de *Stachytarpheta sellowiana* cultivada sob malhas coloridas e pleno sol.



Fonte: Da autora (2022).

4 CONCLUSÃO

O crescimento, desenvolvimento, anatomia, produção de pigmentos fotossintéticos e o metabolismo secundário de plantas de *Stachytarpheta sellowiana* são influenciados pelas diferentes qualidades luminosas.

O cultivo sob pleno sol favoreceu o maior acúmulo de matéria seca da planta. Entretanto, quando se quer obter maior produção de antioxidantes e iridoides, é indicado o cultivo sob malhas azuis.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, FAPEMIG, CNPq por auxílio financeiro e bolsas.

REFERÊNCIAS

- AKISUE, G. *et al.* Presença de ipolamiida em *Stachytarpheta australis*. **Anais de Farmácia e Química de São Paulo**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 57-60. 1981.
- ALMEIDA, M. L. de; MUNDSTOCK, C. M. O afilhamento em comunidades de cereais de estação fria é afetado pela qualidade de luz? **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 45-51, set. 1998.
- ALMEIDA, S. M. Z. *et al.* Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 62-68, fev. 2005.
- ALVES, A. C. *et al.* Biomass production and essential oil of lemon balm cultivated under colored screens and nitrogen. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 94-99, jan./mar. 2018.
- ALVES, E. *et al.* Retention sites for *Xylella fastidiosa* in four sharpshooter vectors (Hemiptera: Cicadellidae) analyzed by scanning electron microscopy. **Current Microbiology**, New York, v. 56, n. 5, p. 531-538, May 2008.
- AQUINO, C. F. *et al.* Composição química e atividade in vitro de três óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 329-336, 2014. Suplemento 1.
- ATANASSOVA, M.; GEORGIEVA, S.; IVANCHEVA, K. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. **Journal of the University of Chemical Technology & Metallurgy**, Beginning, v. 46, n. 1, p. 81-88, 2011.
- ATROCH, E. M. A. C. *et al.* Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas de *Bauhinia forficata* submetidas a diferentes condições de sombreamento. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 853-862, 2001.
- AUMONDE, T. Z. *et al.* Análise de crescimento e partição de assimilados em plantas de maria-pretinha submetidas a níveis de sombreamento. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 99-108, mar. 2013.
- AYALA-TAFOYA, F. *et al.* Growth and yield of tomato in response to sun radiation transmitted by shade nets. **Terra Latinoamericana**, Chapingo, v. 29, n. 4, p. 403-410, 2011.
- BARBOSA, S. M. *et al.* Effects of light intensity on the anatomical structure, secretory structures, histochemistry and essential oil composition of *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng. (Lamiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 95, p. 104224, Apr. 2021.
- BARNES, J. D. *et al.* A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 32, n. 2, p. 85-100, Apr. 1992.

BASTÍAS, R. M.; CORELLI-GRAPPADELLI, L. Light quality management in fruit orchards: physiological and technological aspects. **Chilean Journal of Agricultural Research**, [Santiago], v. 72, n. 4, p. 574-581, Sept./Oct. 2012.

BASTÍAS, R. M.; MANFRINI, L.; GRAPPADELLI, L. C. Exploring the potential use of photo-selective nets for fruit growth regulation in apple. **Chilean Journal of Agricultural Research**, [Santiago], v. 72, n. 2, p. 224-231, Apr./June 2012.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 42 p.

BIERE, A.; MARAK, H. B.; VAN DAMME, J. M. M. Plant chemical defense against herbivores and pathogens: generalized defense or trade-offs. **Oecologia**, Berlin, v. 140, n. 3, p. 430-441, Aug. 2004.

BOROSKI, M. *et al.* **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos**. Curitiba: Appris, 2015. 141 p.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25- 30, 1995.

BRANT, R. S. *et al.* Adaptações fisiológicas e anatômicas de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) cultivadas sob malhas termorrefletoras em diferentes intensidades luminosas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 13, n. 4, p. 467-474, 2011.

BRANT, R. S. *et al.* Growth, content and composition of lemon balm essential oil cultivated under color shading nets. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1401-1407, ago. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Normais climatológica de 1961-1990**. Brasília: Ministério da Agricultura e reforma agrária, 1992. 84 p.

BUTHELEZI, M. N. D. *et al.* Spectral quality of photoselective nets improves phytochemicals and aroma volatiles in coriander leaves (*Coriandrum sativum* L.) after postharvest storage. **Journal of Photochemistry and Photobiology B. Biology**, Lausanne, v. 161, p. 328-334, Aug. 2016.

CARVALHO, C. A. L. de *et al.* (Org.). **Tópicos em ciências agrárias**. Cruz das Almas, BA: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2009. v. 1, 296 p.

CARVALHO, F. T. *et al.* Manejo de plantas daninhas na cultura do milho. *In*: GUIDOLIN, D. G. F.; FERREIRA, M. P. B; RAHE, S. (Org.). **Produção e gestão agroindustrial**. Londrina: Ed. Científica, 2017. v. 4, p. 62-74.

CAVALCANTI, V. P. *et al.* Solvent mixture optimization in the extraction of bioactive compounds and antioxidant activities from garlic (*Allium sativum* L.). **Molecules**, Basel, v. 26, n. 19, p. 6026, Oct. 2021.

CHAGAS, J. H. *et al.* Produção, teor e composição química do óleo essencial de hortelã-japonesa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 297-303, jun. 2013.

- COELHO, A. D. *et al.* Wavelength and light intensity enhance growth, phytochemical contents and antioxidant activity in micropropagated plantlets of *Urtica dioica* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, [Dordrecht], v. 145, p. 59-74, Jan. 2021.
- COSTA, L. C. B. do *et al.* Effects of colored shade netting on the vegetative development and leaf structure of *Ocimum selloi*. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 2, p. 349-359, 2010.
- CRUZ, L. V. V.; SALIMENA, F. R. G. Verbenaceae J. St.-Hil. do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 35, p. 65-74, 2017.
- DOLABELA, M. F. *et al.* Estudo in silico das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. **Revista Fitos**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 227-242, 2018.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212 p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 627 p.
- EVANS, J. R.; POORTER, H. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbono gain. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 24, n. 8, p. 755-767, 2001.
- FALLIK, E. *et al.* Can colored shade nets maintain sweet pepper quality during storage and marketing? **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 830, p. 37-44, 2009.
- FERNANDES, V. F. *et al.* Anatomia e ultraestrutura foliar de *Ocimum gratissimum* sob diferentes níveis de radiação luminosa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 6, p. 1037-1042, jun. 2014.
- FERRAZ, C. V.; CHAGAS, J. C. das; DORIGON, E. B. *Artemisia absinthium* L.: aplicabilidade na saúde humana. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 3, n. 4, p. 10650-10661, jul./ago. 2020.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, Lavras, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- FRANCO, M. A. S.; DILLENBURGL, L. R. Ajustes morfológicos e fisiológicos em plantas jovens de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) em resposta ao sombreamento. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 135-144, 2007.
- FUTURO, D. O.; KAPLAN, M. A. C. Analysis of iridoid glucosides from *Stachytarpheta cayennensis* by NMR Spectroscopy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 70, p. 755-759, 1998.
- GANAPATY, S. *et al.* Phytoconstituents from the roots of *Stachytarpheta indica*. **Journal of Medicinal & Aromatic Plants Science**, Budapest, v. 20, p. 697-699, 1998.

- GARNER, J. Chemical study of two Verbenaceae from Guyana: *Stachytarpheta guyanensis* Vahl. and *Stachytarpheta mutabilis* Vahl. **Plantes Medicinales et Phytotherapie**, Angers, v. 11, n. 4, p. 303-305, 1997.
- GOBBI, K. F. *et al.* Área foliar específica e anatomia foliar quantitativa do capim-braquiária e do amendoim-forrageiro submetidos a sombreamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 7, p. 1436-1444, jul. 2011.
- GOHARRIZI, K. J. *et al.* Assessment of changes in growth traits, oxidative stress parameters, and enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense mechanisms in *Lepidium draba* plant under osmotic stress induced by polyethylene glycol. **Protoplasma**, Leipzig, v. 257, n. 2, p. 459-473, Mar. 2020.
- GUZMÁN, L. C.; BAKKER, Y. V.; RODRIGUES, A. C. Convergência de atributos funcionais e plasticidade fenotípica entre diferentes fitofisionomias dos cerrados. **Ecologia**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 111-124, 2013.
- HANWA, U. A. *et al.* Antimicrobial activity of ipolamiide isolated from the stem bark of *Stereospermum kunthianum* Cham (Bignoniaceae). **Journal of Pharmacy & Bioresources**, Jos, v. 14, n. 2, p. 150-154, 2017.
- HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, June 1979.
- ILIĆ, Z. S. *et al.* Effect of coloured shade-nets on plant leaf parameters and tomato fruit quality. **Journal of Science Food and Agriculture**, London, v. 95, n. 13, p. 2660-2667, Oct. 2015.
- ILIĆ, Z. S. *et al.* Effect of shading by coloured nets on yield and fruit quality of sweet pepper. **Zemdirbyste-Agriculture**, Akademija, v. 104, n. 1, p. 53-62, Feb. 2017.
- ILIĆ, Z. S.; FALLIK, E. Light quality manipulation improves vegetable quality at harvest and postharvest: A review. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 139, p. 79-90, July 2017.
- INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES (IUCN). **The IUCN Red List of Threatened Species - Version 2017-3**. Cambridge: IUCN, 2017. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 5 dez. 2018.
- IRATO, P.; SANTOVITO, G. Enzymatic and non-enzymatic molecules with antioxidant function. **Antioxidants**, Boca Raton, v. 10, n. 4, p. 579, Apr. 2021.
- JESUS, G. S. de; PELACANI, C. R.; GUIMARÃES, D. S. Influência do sombreamento por malhas coloridas no crescimento e eficiência fotossintética da *Physalis angulata*. In: XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 24, 2020, Feira de Santana. **Anais [...]**. Feira de Santana: UEFS, 2020. p. 1-4.
- KAMI, C. *et al.* Light-regulated plant growth and development. **Current Topics in Developmental Biology**, New York, v. 91, p. 29-66, 2010.

KEENAN, T. F.; NIINEMETS, Ü. Global leaf trait estimates biased due to plasticity in the shade. **Nature Plants**, London, v. 3, n. 16201, p.1-6, Dec. 2016.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. v. 3, 452 p.

KLYMENKO, S. *et al.* Iridoids, flavonoids, and antioxidant capacity of cornus mas, *C. officinalis*, and *C. mas* × *C. officinalis* fruits. **Biomolecules**, Bael, v. 11, n. 6, p. 776, May 2021.

LAMBERS, H.; CHAPIM III, F. S.; PONS, T. L. **Plant physiological ecology**. New York: Springer, 1998. 540 p.

LEMOES, P. *et al.* **Folhas caras ou baratas? Estratégias de aquisição e uso de recursos de uma hemiepífita**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2011. 3 p.

LEWIS, M. C. The physiological significance of variation in leaf structure leaf structure. **Science Progress**, London, v. 60, n. 237, p. 25-51, 1972.

LIRA, A. L. *et al.* Atividades antioxidante, antimicrobiana e compostos fenólicos de extratos comercial e in natura de *Curcuma longa*. **Revista Perspectiva**, Florianópolis, v. 45, n. 169, p. 107-114, mar. 2021.

LOBOS, G. *et al.* Spectral irradiance, gas exchange characteristics and leaf traits of *Vaccinium corymbosum* L. 'Elliot' grown under photoselective nets. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 75, p. 142-149, Oct. 2012.

LÓPEZ-VÁZQUEZ, A. L. **Aprimoramento da obtenção de calos e suspensões celulares de *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae) e avaliação dos elicitores NaCl, KCl, AlCl₃, SNP (NO), ABA e luz UV na produção de metabólitos secundários**. 2019. 158 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais) - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2019.

LU, Q. *et al.* HSCCC separation of the two iridoid glycosides and three phenolic compounds from *Veronica ciliata* and their in vitro antioxidant and anti-hepatocarcinoma activities. **Molecules**, Basel, v. 21, n. 9, p. 1234, 2016.

LUCA, C. de; GUIZO, M.; MARTINO, C. 6 β -Hydroxyipolamiide, an iridoid glucoside from *Stachytarpheta mutabilis*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 1185-1187, May 1983.

LUCA, C. de. Isolation of ipolamiide from *Stachytarpheta mutabilis*. **Fitoterapia**, Milano, v. 51, p. 279-280, 1980.

MARTÍNEZ-GUTIÉRREZ, G. A. *et al.* Growth and oil content of basil (*Ocimum basilicum* L.) grown under colored shade nets. **Interciencia**, Caracas, v. 41, n. 6, p. 428-432, June 2016.

MARTINS, J. R. *et al.* Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 82-87, jan./fev. 2009.

- MATHEW, S.; ABRAHAM, T. E.; ZAKARIA, Z. A. Reactivity of phenolic compounds towards free radicals under in vitro conditions. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 52, p. 5790-5798, Jan. 2015.
- MATOS, R. M. *et al.* Características foliares e índice de colheita do rabanete irrigado com água residuária em ambiente protegido. **Enciclopédia Biosfera**, Uberlândia, v. 11, n. 21, p. 372-386, 2015.
- MENEZES, N. L. de; SILVA, D. da C.; PINNA, G. F. de A. M. de. Folha. *In*: APEZZATO-DA-GLORIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia vegetal**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2009. p. 303-311.
- MIAMOTO, J. de B. M. *et al.* Optimization of the extraction of polyphenols and antioxidant capacities from two types of *Solanum gilo raddi* using response surface methodology. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, [Amsterdam], v. 16, p. 100238, Mar. 2020.
- MUNEER, S. *et al.* Influence of green, red and blue light emitting diodes on multiprotein complex proteins and photosynthetic activity under different light intensities in lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 15, n. 3, p. 4657-4670, Mar. 2014.
- NERI-NUMA, I. A. *et al.* Genipap (*Genipa americana* L.) fruit extract as a source of antioxidant and antiproliferative iridoids. **Food Research International**, Barking, v. 134, p. 109252, Aug. 2020.
- OLIVEIRA, G. C. *et al.* Photosynthetic behavior, growth and essential oil production of *Melissa officinalis* L. cultivated under colored shade nets. **Chilean Journal of Agricultural Research**, [Santiago], v. 76, n. 1, p. 123-128, Mar. 2016.
- OREN-SHAMIR, O. M. *et al.* Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May 2001.
- OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 10, p. 4619-4626, Oct. 2001.
- PEARCY, R. W. Responses of plants to heterogeneous light environments. *In*: PUGNAIRE, F. I.; VALLADARES, F. (Ed.). **Functional plant ecology**. Florida: CRC Press, 2007. p. 213-258.
- PINHEIRO, H. S. *et al.* Avaliação do desenvolvimento e da produção de flavonoides de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.(Crassulaceae) em diferentes condições de luz e nutrição. **Revista Fitos**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 404-416, maio 2017.
- PINHEIROS, T. F. *et al.* **Relação entre área específica da folha (SLA) e herbivora em clareira e sub-bosque em uma floresta de terra firme da Amazônia Central**. Manaus: INPA, 2006. 5 p.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 269, n. 2, p. 337-341, May 1999.

REZAEI, M. *et al.* The interaction between shade and drought affects essential oil quantity and quality of *Vitex agnus-castus* L. leaves and seeds. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 137, p. 460-467, Oct. 2019.

RIBEIRO, A. S. **Cultivo sob malhas no crescimento, desenvolvimento e composição química do óleo essencial de Patchouli**. 2015. 98 p. Dissertação (Mestrado em Plantas Mediciniais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

RIBEIRO, A. S. *et al.* Colored shade nets induced changes in growth, anatomy and essential oil of *Pogostemon cablin*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 2, p. 1823-1835, abr./jun. 2018.

ROCHA, J. P. M. **Validação analítica para doseamento de iridoides totais em *Stachytarpheta sellowiana* Schauer, (Verbenaceae) oriundas de diferentes ambientes e processos de secagem**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021.

RODRÍGUEZ, S. M.; CASTRO, O. Evaluación farmacológica y química de *Stachytarpheta jamaicensis* (Verbenaceae). **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 44, n. 2, p. 353-359, 1996.

ROENGSUMRAN, S. *et al.* Crystal structure of ipolamiide monohydrate from *Stachytarpheta indica*. **Analytical Sciences**, Tokio, v. 18, n. 9, p. 1063-1064, Sept. 2002.

SANTOS, F. M. G. dos. **Comportamento germinativo de espécies do gênero *Stachytarpheta* Vahl. (Verbenaceae) ocorrentes nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais**. 2008. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

SCHAPOVAL, E. E. S. *et al.* Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 60, n. 1, p. 53-59, Feb. 1998.

SHAHAK, Y. *et al.* Colornets: crop protection and high-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 659, p. 141-161, 2004.

SILVA, C. S. M. da; MOURÃO, R. H. V. Antioxidant activity of *Myrciaria dubia* (camu-camu) extracts Myrtaceae. **Research, Society and Development**, Washington, v. 11, n. 2, p. 1-14, 2022.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In: METHODS in enzymology*. New York: Academic Press, 1999. p. 152-178.

SOUZA, A. G. de; FASSINA, A. C.; SARAIVA, F. R. de S. Compostos bioativos e atividade antioxidante em frutas nativas do Brasil. **Agrotropica**, Itabuna, v. 30, n. 1, p. 73-78. 2018.

SOUZA, G. S. de *et al.* Photosynthetic pigments content, photosynthesis rate and chloroplast structure in young plants of *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex baker grown under colored nets. **Semina: ciencias agrarias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1843-1854, 2011a.

SOUZA, G. S. de *et al.* Teores de pigmentos fotossintéticos, taxa de fotossíntese e estrutura de cloroplastos de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivadas sob malhas coloridas. **Semina: ciencias agrarias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1843-1854, 2011b.

SOUZA, S. G. de *et al.* Teores de pigmentos fotossintéticos, taxa de fotossíntese e estrutura de cloroplastos de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz bip. ex baker (guaco) cultivadas sob malhas coloridas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 12, p. 1-14, 2011c.

SULTAN, S. E. Promising directions in plant phenotypic plasticity. **Perspectives in Plant Ecology, Evolutin and Systematics**, Jena, v. 6, n. 4 p. 227-233, Dec. 2004.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. São Paulo: Artmed, 2017. 888 p.

TIAN, Y. *et al.* Sephadex LH-20 fractionation and bioactivities of phenolic compounds from extracts of Finnish berry plants. **Food Research International**, Barking, v. 113, p. 115-130, Nov. 2018.

VALLADARES, F.; NIINEMETS, Ü. The Architecture of plant crowns: from design rules to light capture and performance. *In*: PUGNAIRE, F. I.; VALADARES, F. (Ed.). **Functional plant ecology**. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 101-149.

VENDRUSCOLO, M. H. *et al.* In vitro and in silico activity of iridoids against *Leishmania amazonensis*. **Current Drug Discovery Technologies**, Sharjah, v. 16, n. 2, p. 173-183, 2019.

VICENTE, N. F. de P. *et al.* Determination of the phenolic, antioxidant and antimicrobial potential of leaf extracts of *Pereskia grandifolia* Haw. **Research, Society and Development**, Washington, v. 9, n. 10, p. 1-27, 2020.

WANG, C. *et al.* Iridoids: research advances in their phytochemistry, biological activities, and pharmacokinetics. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 2, p. 287, Jan. 2020.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, London, v. 144, n. 3, p. 307-313, Sept. 1994.

WHITEHEAD, S. R.; TIRAMANI, J.; BOWERS, M. D. Iridoid glycosides from fruits reduce the growth of fungi associated with fruit rot. **Journal of Plant Ecology**, Oxford, v. 9, n. 3, p. 357-366, Sept. 2016.

ZHANG, M. *et al.* Growth and photosynthetic capability of *Momordica grosvenori* plantlets grown photoautotrophically in response to light intensity. **HortScience**, Alexandria, v. 44, n. 3, p. 757-763, June 2009.

ZHANG, Y-L. *et al.* Contrasting leaf trait responses of conifer and broadleaved seedlings to altered resource availability are linked to resource strategies. **Plants**, Basel, v. 9, n. 5, p. 1-15, May 2020.

**CAPÍTULO 4 CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DE *Stachytarpheta sellowiana*
OCORRENTE EM CERRADO E CAMPO RUPESTRE**

**ANATOMICAL CHARACTERISTICS OF *Stachytarpheta sellowiana* OCCURRING IN
CERRADO AND CAMPO RUPESTRE**

RESUMO

Stachytarpheta sellowiana Schauer (Verbenaceae) é uma planta nativa e endêmica do Brasil que se encontra ameaçada de extinção. Plantas desenvolvidas, em diferentes ambientes, podem apresentar características morfoanatômicas divergentes. Neste sentido, objetivou-se caracterizar morfoanatomicamente as folhas de *S. sellowiana*, coletadas em dois tipos de ambientes, sendo eles Campo Rupestre e Cerrado. Folhas do terço superior de 50 indivíduos foram coletadas aleatoriamente, localizados na Serra do Campestre, em Lavras/MG. Foram identificadas separadamente pelos seus tratamentos e colocadas em sacos de alumínio, para posteriores observações em microscopia óptica de luz e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para a observação em MEV, elas foram fixadas em Karnovsky e, em seguida, desidratadas em gradientes progressivos de acetona e submetidas à secagem ao ponto crítico, montadas em *stubs* de alumínio, para então receber cobertura metalizada em evaporador de ouro Sputtering. Após os procedimentos, as amostras foram observadas em microscópio eletrônico de varredura. O delineamento experimental aplicado foi o DIC, utilizando cinco repetições, com 10 folhas por repetição, totalizando 50 folhas por ambiente (Cerrado e Campo Rupestre). Para microscopia de luz, folhas foram fixadas em álcool 70° e, em seguida, foram realizados cortes transversais em três partes, ápice, meio e base. Após o corte, as amostras foram colocadas em vidro relógio e lavadas com água destilada para posterior clarificação, coloração e montagem das lâminas. O delineamento experimental aplicado foi o DIC, utilizando quatro repetições com seis cortes por repetição por ambiente (cerrado e campo rupestre). Foram mensurados os seguintes parâmetros: densidade de tricomas tectores (TT) e glandulares (grandes (TGG) e pequenos (TGP)) por unidade de área (μm^2), comprimento dos tricomas tectores (CTT), a densidade estomática (e) e os diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) dos estômatos, além da relação DP/DE. A partir das observações morfoanatômicas, tanto de corte transversal quanto pela observação das faces das folhas, podem ser classificadas como pilosas, em que ocorrem em toda a epiderme, com maior frequência na face adaxial, exceto para a face abaxial não foram observados tricomas tectores nas plantas do Cerrado. A estrutura das folhas pode se diferir em resposta ao tipo de ambiente em que se encontram. Conclui-se que há diferenças morfoanatômicas nas folhas de *S. sellowiana* conforme o ambiente de cultivo.

Palavras-chave: Microscopia. Cortes transversais. Gervão roxo. Ambientes de cultivo.

ABSTRACT

Stachytarpheta sellowiana Schauer (Verbenaceae) is a native and endemic plant from Brazil that is threatened with extinction. Plants developed in different environments may present divergent morphoanatomical characteristics. In this sense, the objective was to morphoanatomically characterize the leaves of *S. sellowiana*, collected in 2 types of environments, namely Campo Rupestre and Cerrado. Leaves from the upper third of 50 individuals were randomly collected, located in Serra do Campestre, in Lavras/MG. They were identified separately by their treatments, and placed in aluminum bags for further observations in optical light microscopy and scanning electron microscopy (SEM). For observation in SEM, they were fixed in Karnovsky, and then dehydrated in progressive gradients of acetone and subjected to critical point drying, mounted on aluminum stubs, to then receive metallized coverage in a Sputtering gold evaporator. After the procedures, the samples were observed in a scanning electron microscope. The experimental design applied was the DIC, using 5 repetitions, with 10 leaves per repetition, totaling 50 leaves per environment (Cerrado and Campo Rupestre). For light microscopy, leaves were fixed in 70° alcohol and then transverse sections were made in 3 parts, apex, middle and base. After cutting, the samples were placed on watch glass and washed with distilled water for further clarification, staining and mounting of the slides. The experimental design applied was the DIC, using 4 repetitions with 6 cuts per repetition per environment (cerrado and campo rupestre). The following parameters were measured: density of tector (TT) and glandular trichomes (large (TGG) and small (TGP)) per unit area (μm^2), length of tector trichomes (CTT), stomatal density (e) and polar (DP) and equatorial (DE) diameters of the stomata, in addition to the DP/DE ratio. From the morphoanatomical observations, both cross-section and the observation of the leaf faces, they can be classified as hairy, where they occur throughout the epidermis, with greater frequency on the adaxial face, except for the abaxial face, no tector trichomes were observed. in Cerrado plants. The structure of the leaves may differ in response to the type of environment in which they are found. It is concluded that there are morphoanatomical differences in the leaves of *S. sellowiana* according to the cultivation environment.

Keywords: Microscopy. Cross-sections. Purple 'gervão'. Cultivation environments.

1 INTRODUÇÃO

Pertencente ao gênero *Stachytarpheta* Vahl. (Verbenaceae) *Stachytarpheta sellowiana* Schauer é uma espécie nativa e endêmica do Brasil que se encontra ameaçada de extinção (INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES - IUCN, 2017). Essa espécie é encontrada, principalmente no Sudeste do Brasil, mais especificamente em vegetações do tipo cerrado e campo rupestre, localizadas no estado de Minas Gerais. Verifica-se que essa espécie se adaptou às condições de fogo e, como indicação desta adaptação, forma uma raiz tuberificada, cujas reservas são utilizadas para o rebrotamento da parte aérea, logo após a passagem de fogo na vegetação (quando essa ocorre). Além disso, acredita-se que a germinação de sementes também possa ser dependente do fogo (ATKINS; ALVES; KOLBECK, 1996).

O hábito é ereto, arbustivo 0,4 - 1,3 m de altura, com ramos cilíndricos, pubescentes, com folhas obovadas e coriáceas com filotaxia oposta, margens crenadas/serreadas, de lâmina inteira, com tricomas glandulares e tectores nas faces adaxial e abaxial. Sua inflorescência é tipo racemosa com espigas terminais, brácteas verdes, espessas, persistente com tricomas glandulares. Flores monoclinas, zigomorfas sesséis; cálice tubuloso dentado, verde, tricoma glandular presente persistente; corola azul infundibuliforme; dois estames férteis, dois estaminódios inclusos; ovário súpero glabro com dois lóculos. Frutos secos esquizocárpico, dois mericarpos unisseminados castanho escuro (IUCN, 2017).

Em razão da ampla gama de espécies do gênero *Stachytarpheta*, bem como a escassez de estudos sobre as espécies do gênero, é de extrema importância que tenhamos formas eficazes que auxiliem na identificação correta das espécies, principalmente pelas modificações morfológicas que essas espécies podem apresentar para se adaptar em ambientes diferentes. Assim, estudos que investiguem as características anatômicas podem ser importantes ferramentas que demonstrem, por exemplo, a organização estrutural da espécie, bem como apontar se sofre mudanças de acordo com o ambiente. Além disso, pelos ajustes da legislação, para o controle de qualidade de fitoterápicos, ainda é necessário ampliar as bases de dados, a partir de estudos que caracterizem as espécies vegetais, que possuem um potencial medicinal (MILANEZE-GUTIERRE *et al.*, 2007).

De acordo com Miola (2019), o termo Campo Rupestre é o mais indicado para denominar o mosaico de vegetação montana, gramíneo-arbustiva, com afloramentos rochosos de quartzito, arenito ou ferro, associado a campos arenosos, pedregosos e encharcados e entremeado por manchas de outros tipos de vegetação. Já o cerrado, (considerado por alguns

como savana) é formado basicamente por dois grupos de espécies, um formado por plantas rasteiras e outro composto principalmente por árvores e arbustos. Nesse habitat são encontrados 5% da flora e fauna e um terço da biodiversidade mundial (FERREIRA; CAMARGOS, 2016).

Neste sentido, objetivou-se caracterizar morfoanatomicamente folhas de *Stachytarpheta sellowiana*, por cortes transversais e observações das faces abaxial e adaxial, coletadas em dois tipos de ambientes, Campo Rupestre e Cerrado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material vegetal

Folhas do terço superior de 50 plantas foram coletadas aleatoriamente, sendo elas advindas do campo rupestre e do cerrado, localizadas na Serra do Campestre, no município de Lavras, (Mesorregião Campo das Vertentes, Microrregião - 57 Lavras, Minas Gerais, Brasil). A área de cerrado está localizada nas coordenadas 21°20'00.42" S e 44°58'09.66" O, a uma altitude de 998 m, e a área de campo rupestre nas coordenadas 21°20'19.45" S e 44°58'38.40" O, a uma altitude de 1159 m. O material vegetal foi herborizado e incorporado ao acervo do Herbário PAMG (Herbário de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG, Belo Horizonte, Minas Gerais) sob o registro 58889. Após coletadas, as folhas foram transferidas para o Laboratório de Fitoquímica, localizado no Horto de Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras da Universidade Federal de Lavras (DAG/ESAL/UFLA), localizada na região Campo das Vertentes Minas Gerais, Brasil sendo identificadas separadamente pelos seus ambientes (Campo Rupestre e Cerrado) e colocadas em sacos de alumínio para posteriores observações em microscopia óptica de luz (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

2.2 Preparação das amostras para a visualização em MEV (Microscopia eletrônica de varredura)

As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia descrita por Alves et al. (2008). Parte do material foi então transferido para o laboratório do setor de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da Escola de Ciências Agrárias de Lavras da Universidade Federal de Lavras (DFP/ESAL/UFLA) onde as folhas foram fragmentadas (FIGURA 1) e fixadas em microtubos de 1,5 mL, com Karnovsky modificado (Glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05M, pH 7,2, CaCl₂ 0,001M). Os cortes foram preparados de forma que fosse possível observar as características das faces adaxial e abaxial.

Figura 1 - Cortes das folhas de *Stachytarpheta sellowiana*, para a fixação em Karnovsky.



Fonte: Da autora (2018).

Os fragmentos foliares foram desidratados em gradientes percentuais progressivos de acetona (25, 50, 75, 90 e 100%), por 10 minutos, em cada proporção e, em seguida, inseridos no secador de ponto crítico (BAL-TEC, modelo CPD-030, Principality of Liechtenstein). Após a secagem, foram alocadas em *stubs* de alumínio com fita adesiva dupla-face, para, então, receber cobertura metalizada em evaporador de ouro Sputtering (BAL-TEC, modelo SCD-050, Principality of Liechtenstein). Após a preparação das amostras, os *stubs* foram observados em microscópio eletrônico de varredura (LEO EVO 40 XP Carl Zeiss), em vista frontal, de ambas as faces da folha, onde foram capturadas 50 imagens de cada face em cada tipo de ambiente.

2.2.1 Delineamento experimental e variáveis analisadas, microscopia eletrônica de farredura

O delineamento experimental foi o Inteiramente Casualizado (DIC), com dois tratamentos (campo rupestre e cerrado), cinco repetições, contendo 10 amostras por repetição, de cada face da folha (adaxial e abaxial).

Foram mensurados os seguintes parâmetros: densidade de tricomas tectores (TT) e glandulares grandes (TGG) e pequenos (TGP), por unidade de área (μm^2), comprimento dos tricomas tectores (CTT), a densidade estomática (E) e os diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) dos estômatos, além da relação DP/DE.

2.3 Preparação das amostras para a visualização em microscopia óptica

As folhas foram separadas em 24 amostras/tratamento e fixadas em álcool 70°. Em seguida, foram excisadas em três partes, ápice, meio e base, com 1cm²/fragmento. As amostras foram inseridas entre dois pedaços de isopor para cortes à mão livre com o auxílio de uma lâmina de aço. Após o corte, as amostras foram colocadas em vidro relógio e lavadas com água destilada para posterior clarificação.

2.3.1 Clarificação, coloração e montagem das lâminas

Inicialmente foi feita uma pré-seleção dos melhores cortes, que foram colocados em vidro relógio, contendo uma solução composta por 50% de água e 50% de hipoclorito de sódio. Depois foram mantidas nesta solução por 5 min ou até alcançarem uma transparência. Logo após, foi feita uma neutralização com água acética 5% e, em seguida, foram feitas três lavagens em água destilada.

Após o processo de clarificação, as amostras foram coradas, utilizando-se o corante safrablau (GAVILANES *et al.*, 2020). Após coloração (15 segundos), os cortes foram novamente selecionados, sendo adicionadas três gotas do corante sobre as amostras; após 15 segundos, foi utilizada água destilada, a fim de diluir o corante e acrescentou-se solução hidroalcoólica 40% por pelo menos 24h para a extração do excesso de corante.

Foram montadas lâminas contendo as três regiões ápice, meio e base para cada tratamento. Na lâmina, com solução água-glicerina (v:v), os cortes foram adicionados lado a lado sobre essa solução. Assim, tomou-se o cuidado para não deixar os cortes sobrepostos, e então a lamínula foi colocada sobre as amostras. Para retirar algum excesso de glicerina, foi utilizado um papel filtro.

2.3.2 Delineamento experimental e variáveis analisadas em microscopia óptica

O delineamento experimental foi o Inteiramente Casualizado (DIC), com dois tratamentos (ambiente Campo Rupestre e Cerrado), quatro repetições, contendo seis cortes por repetição, de cada parte da folha (ápice, meio e base).

As variáveis analisadas foram: espessura da epiderme adaxial (μm), espessura da epiderme abaxial (μm), espessura do parênquima paliçádico (μm), espessura parênquima

lacunoso (μm), área do colênquima superior (μm^2), área do colênquima inferior (μm^2), área total da nervura mediana (μm^2), área total do feixe vascular (μm^2).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

As folhas da espécie *Stachytarpheta sellowiana* foram colhidas no estágio de plena floração (FIGURA 2).

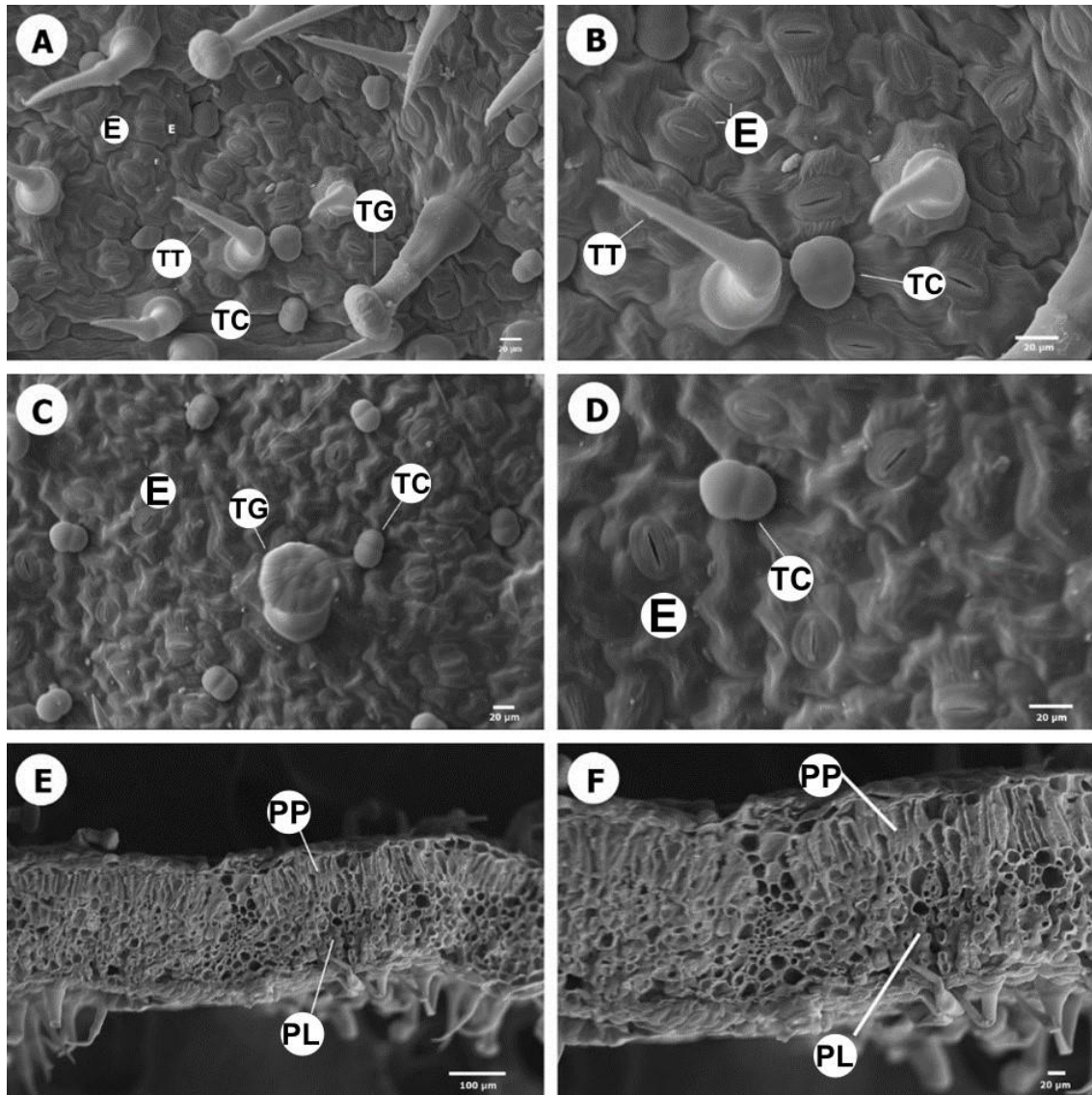
Figura 2 - Hábito da planta *Stachytarpheta sellowiana*, em estágio de floração, na Serra do Campestre, Lavras, MG.



Fonte: Da autora (2018).

Diferenças anatômicas foram observadas nas folhas de plantas de *Stachytarpheta sellowiana* colhidas em diferentes ambientes. A Figura 3 apresenta as fotos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das folhas do Cerrado, e a Figura 4 do Campo Rupestre. Nas Figuras 3A-D, observaram-se a presença de TT e TG, em ambas as faces foliares, exceto para a face abaxial não foram observados TT nas plantas do Cerrado.

Figura 3 - *Stachytarpheta sellowiana*: Eletromicrografia de Varredura de folhas advindas do Cerrado.



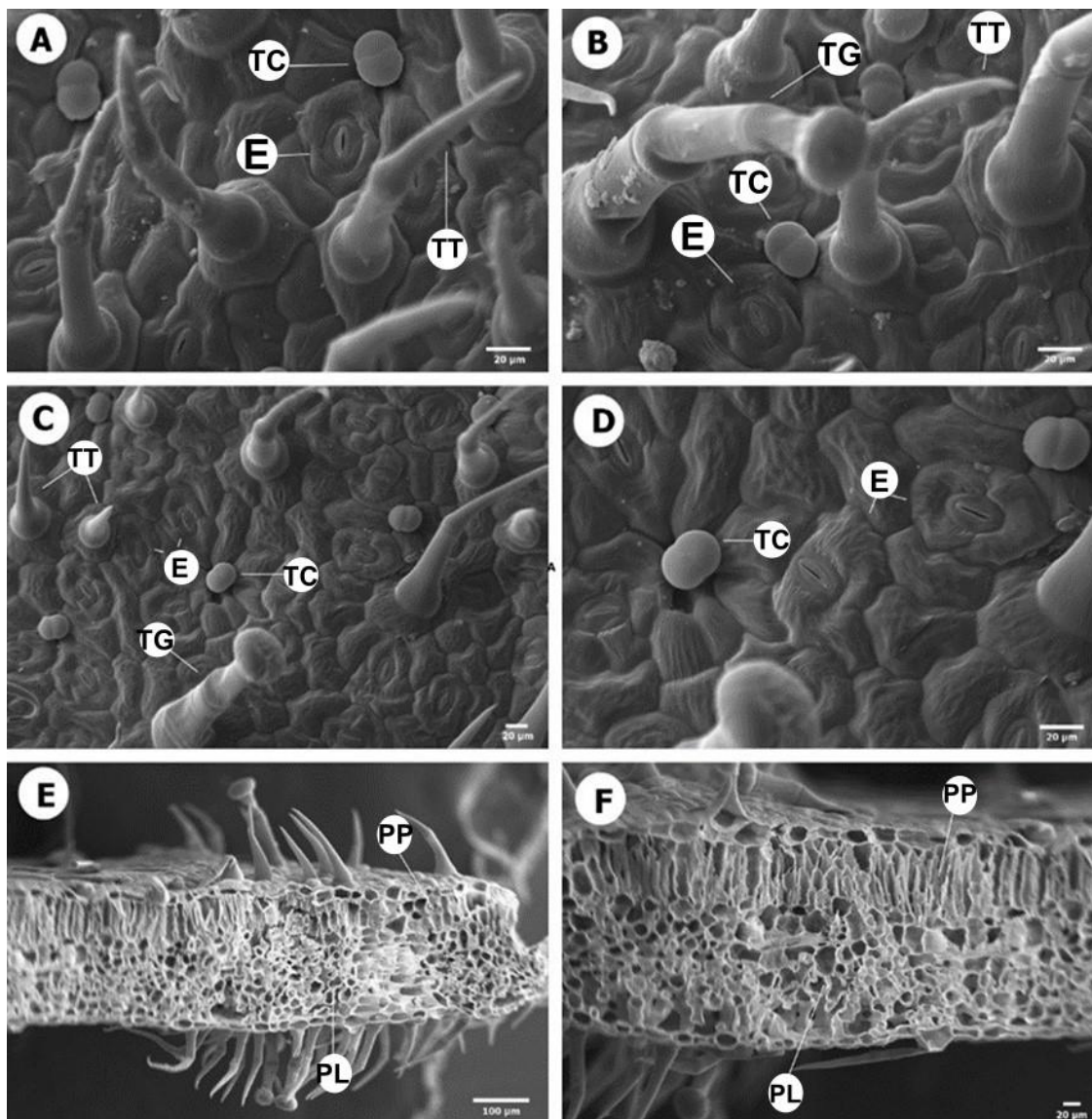
Legenda: A = Face adaxial; B = Face adaxial; C = Face abaxial; D = Face abaxial; E = Corte transversal; F = Corte transversal; TT = Tricoma tector; TC = Tricoma captado; TG = Tricoma glandular; E = Estômato; PP = Parênquima paliçádico; PL = Parênquima Lacunoso. Figura A, B, C, D, F, escala 20 μm ; Figura E, escala 100 μm .

Fonte: Da autora (2022).

Nas Figuras 3A-B e 3A-C, nota-se a presença de TT, uni a multisseriados e, nas Figuras 3C e 3C, TC, curto a longo pedunculados. Com a presença desses tricomas, as folhas podem ser classificadas como pilosas; ocorrem em toda a epiderme, com maior frequência na face adaxial.

Nas Figuras 4A-D, observa-se a presença de TT e TG, em ambas as faces foliares, nas plantas do Campo Rupestre.

Figura 4 - *Stachytarpheta sellowiana*: Eletromicrografia de Varredura, de folhas advindas do Campo Rupestre.



Legenda: A = Face adaxial; B = Face adaxial; C = Face abaxial; D = Face abaxial; E = Corte transversal; F = Corte transversal; TT = Tricoma tector; TC = Tricoma captado; TG = Tricoma glandular; E = Estômato; PP = Parênquima paliçádico; PL = Parênquima Lacunoso. Figura A, B, C, D, F, escala 20 µm; Figura E, escala 100 µm.

Fonte: Da autora (2022).

A família Verbenaceae é caracterizada por ter espécies que apresentam muitos TG, nos seus diversos órgãos, responsáveis pelo acúmulo e síntese de metabólitos secundários que podem ou não apresentar funções biológicas ou farmacológicas (JUDD *et al.*, 2009; PASCUAL *et al.*, 2001; SOUZA; LORENZI, 2008). Desta forma, os resultados encontrados estão de acordo com a literatura, pois foram descritos, neste estudo, a presença de TT e TG captados, dispostos em ambas as faces foliares. Dados correspondentes foram encontrados, em *Verbena*

litoralis Kunth, em que TG e TT unicelulares foram observados em ambas as faces das folhas (AOYAMA; FURLAN; INDRIUNAS, 2019).

Com base nas análises das imagens capturadas, a partir do MEV, observou-se que as células epidérmicas, tanto em material de Campo Rupestre como o de Cerrado, são unisseriadas (FIGURAS 3E-F e 3E-F) e, quando vistas frontalmente, apresentam paredes anticlinais onduladas (FIGURAS 3B e 4D); estômatos do tipo diacítico, que ocorrem em ambas as faces das folhas (FIGURAS 3B e D e 4B e D). Observou-se que o mesofilo é constituído de uma camada de tecido paliçádico, que ocupa 50% dessa estrutura, e o parênquima lacunoso apresenta de 4 a 5 camadas de células de formatos e posições irregulares (FIGURA 3E-F e 4E-F).

De acordo com Adedeji (2012), as folhas de *Stachytarpheta cayenensis* (Rich) Vahl, *Stachytarpheta angustifolia* (Mill.) Vahl e *Stachytarpheta indica* (L.) Vahl apresentam células epidérmicas com forma poligonal. São classificadas como anfiestomáticas e também apresentam estômatos na sua grande maioria classificados como diacíticos. Esses dados corroboram com os encontrados neste trabalho, cujas folhas também são classificadas como anfiestomáticas apresentando estômatos diacíticos. Idu, Erhabor e Odia (2009), em seu trabalho de caracterização morfoanatômica de folhas de *S. jamicensis* e *S. cayenensis*, também constataram que a epiderme é coberta com cutícula espessa, o parênquima paliçádico é observado imediatamente abaixo da epiderme adaxial e os estômatos são encontrados em ambos os lados da folha (anfiestomática).

Nota-se que a anatomia das folhas de *Stachytarpheta sellowiana* é dependente do ambiente de ocorrência, pois diferenças estatísticas significativas foram observadas nos parâmetros anatômicos avaliados (TABELA 1). A face abaxial das folhas dessa espécie, coletadas no Cerrado, apresentou, em média, maior número de estômatos (200,3), apesar de não diferir estatisticamente quando comparado aos valores encontrados para as folhas do Campo Rupestre (183,9).

Tabela 1 - Medições das estruturas das folhas de *Stachytarpheta sellowiana*, por meio de Eletromicrografia de Varredura.

Ambiente	NE	NTT	NTGS	NTGP	NCEL	DPE (μm)	DEE (μm)	DPE\DEE (μm)
Adaxial								
Cerrado	134,5 a	33,6 b	42,3 a	6,6 b	857,1 b	31,6 a	22,0 a	1,70 a
Campo rupestre	133,5 a	43,3 a	28,5 b	15,8 a	954,5 a	31,5 a	20,3 b	1,57 a
Abaxial								
Cerrado	200,3 a	36,7 b	67,8 a	13,3 b	773,1 b	33,3 a	23,9 a	1,39 a
Campo rupestre	183,9 a	114,7 a	60,6 a	21,4 a	936,1 a	27,3 b	19,2 b	1,43 a

Fonte: Da autora (2021).

Legenda: (NE: Número de estômatos; NTT: Número de tricomas tectores, NTGS: Número de tricomas glandulares septados, NTGP: Número de tricomas glandulares peltados; NCEL: Número de células epidérmicas; DPE: Diâmetro polar do estômato; DEE: Diâmetro equatorial do estômato). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Os dados, para o número de estômatos, corroboram com o estudo realizado por Rossatto, Hoffmann e Franco (2009), em que esses autores relataram que a espécie *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae: Detarioideae), encontrada no ambiente de Cerrado, apresentou maior densidade estomática na face abaxial. Esse resultado pode ser relacionado com maior exposição dessas folhas aos fatores abióticos mencionados anteriormente, corroborando com os dados descritos por Lleras (1974), em que o autor mencionou ter encontrado maior densidade estomática em folhas expostas à maior irradiação solar ou baixa disponibilidade de água. A funcionalidade estomática (DPE/DEE) não apresentou diferenças estatísticas entre os ambientes, tanto para a parte abaxial quanto para a adaxial, sendo assim, todos os estômatos podem ser caracterizados como funcionais. Quanto maior a relação estomática, maior seu funcionalismo, pelo seu formato elipsoide (DUBBERSTEIN, 2019). Os estômatos são estruturas que regulam o fluxo transpiratório e de CO₂, assim, a densidade estomática, em espécies como a *Stachytarpheta sellowiana*, podem demonstrar se a espécie se adapta às condições de ambientes diferentes. Fatores ambientais, tais como luminosidade, índice pluviométrico, tipo e nutriente de solo, altitude e sazonalidade podem influenciar nas características morfoanatômicas das plantas.

Note que, independentemente do tipo de ambiente, a face abaxial das folhas de *Stachytarpheta sellowiana* apresentaram maiores quantidade de tricomas. Dados semelhantes foram encontrados, nos trabalhos de Iroka, Okeke e Okereke (2015), cujo maior número de tricomas, nas espécies *Stachytarpheta angustifolia*, *Stachytarpheta jamaicensis* e *Stachytarpheta cayanensis*, foram constatados também na face abaxial. Os parâmetros NTT,

NTGP e NCEL da epiderme adaxial das folhas coletadas no Campo Rupestre foram significativamente maiores que as do Cerrado. Em contrapartida, os parâmetros NTGS e DEE das folhas do Cerrado foram significativamente maiores que as do Campo Rupestre. Além disso, verificou-se que apenas para o parâmetro NTGS da face abaxial das folhas coletadas nos dois ambientes não houve diferença estatística. Para os parâmetros NTT, NTGP e NCEL, da parte abaxial, também foram mais significativos para o Campo Rupestre que para o cerrado. E os parâmetros DEE e DPE foram mais significativos para o Cerrado quando comparado ao Campo Rupestre. Ao comparar os ambientes, verifica-se que, em média, folhas coletadas no Campo Rupestre apresentam maior NTT, NTGP e NCEL. Verificou-se que o ambiente também influenciou significativamente na densidade dos tricomas totais.

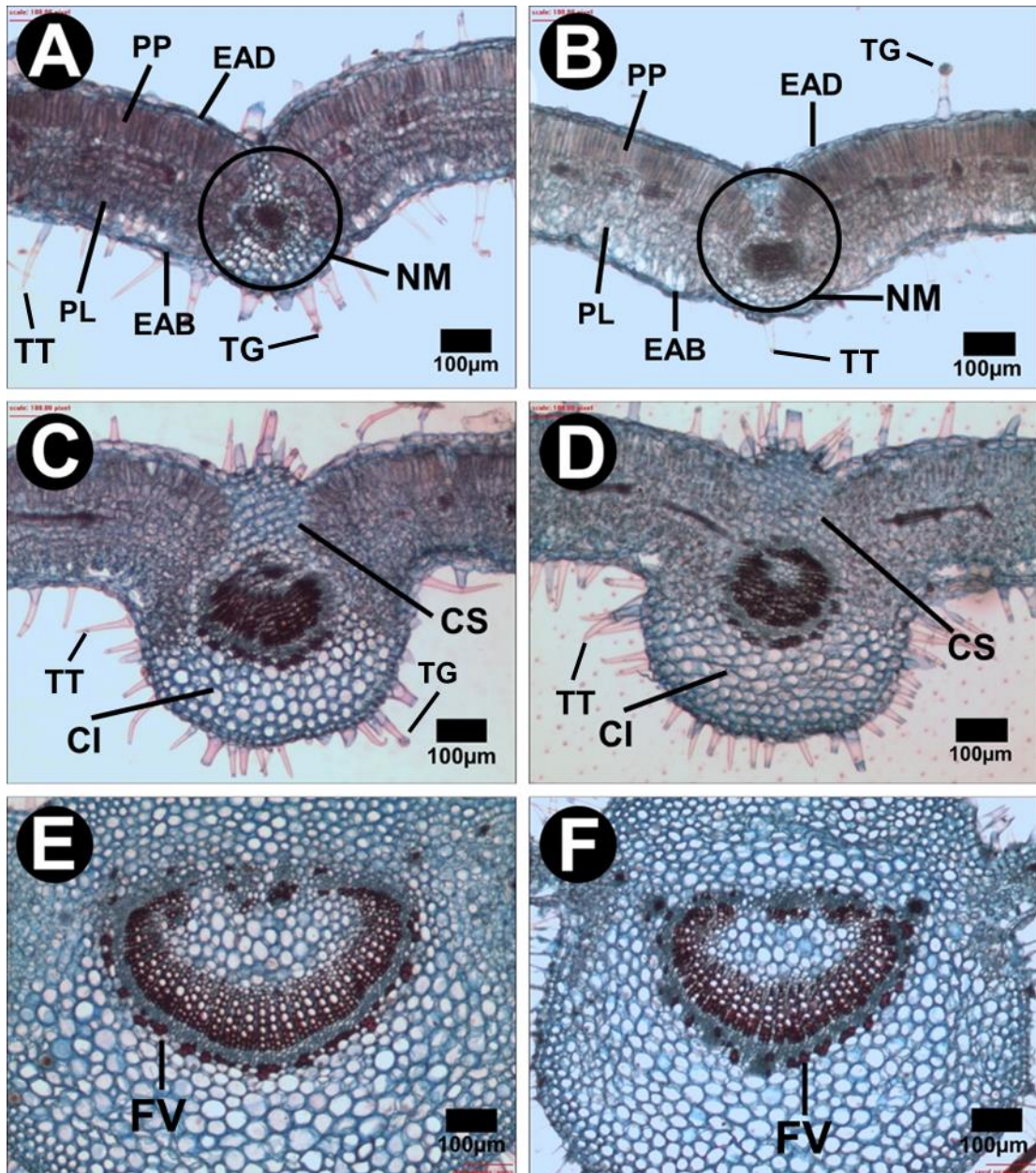
Os resultados encontrados neste estudo corroboram com os descritos na literatura, demonstrando que tanto os tricomas quanto os estômatos são estruturas anatômicas que podem ser influenciados pelos fatores abióticos, em que esses fatores podem interferir na distribuição, densidade e na quantidade e composição química dos metabólitos secundários ali produzidos (TOZIN, 2014). Neste sentido, as folhas das espécies, que se desenvolvem no Cerrado e no Campo Rupestre, são os órgãos mais afetados por esses fatores por sua exposição, levando a uma interferência na gestão hídrica, na fixação de carbono e respostas adaptativas (GIVNISH, 1984; JUSTO *et al.*, 2005; MARQUES *et al.*, 2000; ROSSATTO; HOFFMANN; FRANCO, 2009). Além da densidade estomática, a morfologia dos estômatos também pode ser influenciada pelo ambiente, o que pode ser relacionado com a capacidade da espécie em adaptar às diferentes condições ambientais durante o desenvolvimento da folha (ABRAMS; KUBISKE; MOSTOLLER, 1994; PANDEY; NAGAR 2003; PEARCE *et al.*, 2006). Além disso, de acordo com Pearce *et al.* (2006), espécies de Cerrado, em geral, apresentam maior densidade estomática e estômatos menores por sazonalidade pluviométrica.

3.2 Microscopia óptica

Diferenças anatômicas foram observadas no tecido foliar das plantas de *Stachytarpheta sellowiana* coletas no Cerrado e Campo Rupestre. As Figuras 5A, 5C e 5E apresentam as características anatômicas das folhas de Cerrado e as Figuras 5B, 5D e 5F as do Campo Rupestre. Nota-se que foram observados TG no corte correspondente ao ápice da folha do Cerrado (FIGURA 5A) e, nos cortes transversais da nervura primária das folhas de campo Rupestre, tanto TT quanto TG estão presentes em ambas as faces (Figuras 5B e 5D). Pode-se observar, também, que as folhas contêm uma camada de células epidérmicas, seguida por uma

camada espessa de colênquima e parênquima. Nas Figuras 5C (parte mediana da folha Cerrado) e 5E (parte basal da folha Cerrado), o feixe vascular ocupou maior área na estrutura das folhas, quando comparadas ao feixe vascular das folhas de Campo Rupestre (5F).

Figura 5 - *Stachytarpheta sellowiana*: microscopia de luz óptica de folhas.



Legenda: A = Ápice da folha do cerrado; B = Ápice da folha do campo rupestre; C = Parte mediana da folha do cerrado; D = Parte mediana do campo rupestre; E = Base da folha do cerrado; F = Base da folha do campo rupestre.

Fonte: Da autora (2022).

A espessura da epiderme adaxial, abaxial e do parênquima paliçádico da parte apical das folhas apresentaram maiores valores, no ambiente de Campo Rupestre, quando comparado

ao Cerrado (TABELA 2). Para a parte mediana e basal, os parênquimas paliçádico e lacunoso foram mais responsivos no Cerrado que no Campo Rupestre.

Tabela 2 - Medições das estruturas das folhas, lado esquerdo (LE) e lado direito (LD), em ambientes de cerrado e de campo rupestre, de *Stachytarpheta sellowiana*, pela Microscopia de luz óptica.

Ambiente	Espessura Epiderme Adaxial (µm)		Espessura Epiderme Abaxial (µm)		Espessura Parênquima Paliçádico (µm)		Espessura Parênquima Lacunoso (µm)	
	LE	LD	LE	LD	LE	LD	LE	LD
Apical								
Campo rupestre	21,9 a	22,6 a	19,6 a	18,5 a	87,9 a	94,3 a	133,7 b	130,9 b
Cerrado	17,2 b	15,9 b	12,3 b	14,4 b	74,7 b	77,3 b	167,8 a	155,9 a
Mediana								
Campo rupestre	17,4 b	18,7 a	16,7 a	16,1 a	76,4 a	77,6 a	123,7 a	131,6 a
Cerrado	19,2 a	18,8 a	14,4 a	18,7 a	84,5 a	88,1 a	139,7 a	145,2 a
Basal								
Campo rupestre	20,3 a	16,1 a	14,9 a	15,6 a	38,1 b	45,5 b	90,2 b	78,7 b
Cerrado	17,9 a	16,5 a	16,5 a	14,6 a	51,3 a	61,6 a	103,5 a	103,7 a

Fonte: Da autora (2022).

Legenda: Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

A estrutura das folhas pode diferir em resposta à intensidade luminosa que recebem, pois, geralmente, as folhas que crescem sob o sol são mais espessas que as folhas de sombra (MENEZES; SILVA; PINNA, 2012). Em condições ensolaradas, as folhas podem apresentar uma elevada taxa fotossintética, além de serem mais espessas por unidade de área, quando comparadas com espécies que se desenvolvem sob a sombra (BJORKMAN, 1981; BOARDMAN, 1977). O aumento do parênquima paliçádico é alusivo ao acréscimo da espessura foliar. Este é diretamente relacionado à redução na resistência do mesófilo ao dióxido do carbono (NOBEL, 1977). Quando em altas luminosidades, os estômatos se abrem e, com isso, aumenta a entrada de CO₂ e, conseqüentemente, há um aumento na taxa fotossintética (TAIZ *et al.*, 2017).

Para a área do colênquima superior (situado próximo à epiderme adaxial), a porção apical e basal apresentaram diferença significativa (TABELA 3). O campo rupestre proporcionou maior área (8.350 µm² parte apical e 75.871 µm² parte basal). O oposto ocorreu

com a área do colênquima inferior (situado próximo à epiderme abaxial), em que maiores valores foram proporcionados pelo ambiente do Cerrado (249.327 μm^2). A área total do feixe vascular e da nervura mediana tiveram respostas correspondentes e maiores valores foram detectados no ambiente do cerrado, na parte basal da folha (191.911 e 546.163 μm^2 , respectivamente).

Tabela 3 - Medições das estruturas das folhas de *Stachytarpheta sellowiana*, por Microscopia de luz.

Ambiente	Área do Colênquima Superior (μm^2)	Área do Colênquima Inferior (μm^2)	Área Total da Nervura Mediana (μm^2)	Área Total do Feixe Vascular (μm^2)
Apical				
Campo rupestre	8350 a	17032 a	42373 a	9277 a
Cerrado	6227 b	17894 a	35271 a	7008 b
Mediana				
Campo rupestre	24787 a	68474 a	157351 a	43596 a
Cerrado	18968 a	66904 a	159030 a	45687 a
Basal				
Campo rupestre	75871 a	191613 b	440653 b	123682 b
Cerrado	59323 b	249327 a	546163 a	191911 a

Fonte: Da autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

O colênquima pode ser classificado como tecido de suporte de órgãos e regiões vegetais, que possuem crescimento primário. As células do colênquima possuem paridade com as do parênquima, pois possuem protoplastos vivos, além da capacidade de retornar a ter atividade meristemática (SCATENA; SCREMIN-DIAS, 2006).

Na nervura encontram-se os feixes vasculares, que contêm os vasos de xilema e floema. Esse é um sistema vital, para que haja um bom desenvolvimento da planta, por meio do qual chegará água até o mesófilo, pelo xilema, e os fotoassimilados escoarão para as demais partes da planta pelo floema. Por isso, alterações nessas estruturas, quanto ao diâmetro, quantidade, área irão influenciar diretamente a fotossíntese, crescimento e desenvolvimento das espécies (COSTA *et al.*, 2006).

A camada epidérmica, tanto em material de Campo Rupestre como o de Cerrado é unisseriada, e as folhas são anfiestomáticas, com presença de tricomas tectores e glandulares em ambas as epidermes. A anatomia das folhas de *Stachytarpheta sellowiana* é dependente do ambiente de ocorrência, pois diferenças estatísticas significativas foram observadas, nos

parâmetros anatômicos avaliados, em que a densidade dos tricomas, em média, são maiores no ambiente de Campo Rupestre.

4 CONCLUSÃO

Os achados do presente estudo contribuem para o protocolo de identificação morfoanatômica da espécie *Stachytarpheta sellowiana*. A partir deste estudo, pode-se classificar as folhas da espécie, coletadas tanto no Cerrado quanto no Campo Rupestre como sendo pilosas e anfiestomáticas, por apresentarem tricomas tectores e glandulares e estômatos, em ambas as faces, sendo a epiderme das folhas unisseriada. Além disso, verificou-se que o ambiente influenciou de forma significativa a densidade dessas estruturas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, FAPEMIG, CNPq por auxílio financeiro e bolsas.

REFERÊNCIAS

- ABRAMS, M. D.; KUBISKE, M. E.; MOSTOLLER, S. A. Relating wet and dry year ecophysiology to leaf structure in contrasting temperate tree species. **Ecology**, Tempe, v. 75, n 1, p. 123-133, Jan. 1994.
- ADEDEJI, O. Systematic significance of trichomes and foliar epidermal morphology in the species of *Stachytarpheta* Vahl. (Verbenaceae) from Nigeria. **Thaiszia Journal of Botany**, Košice, v. 22, n. 1, p. 1-31, Jan. 2012.
- ALVES, E. *et al.* Retention sites for *Xylella fastidiosa* in four sharpshooter vectors (Hemiptera: Cicadellidae) analyzed by scanning electron microscopy. **Current Microbiology**, New York, v. 56, n. 5, p. 531-538, May 2008.
- AOYAMA, E. M.; FURLAN, M. R.; INDRIUNAS, A. Anatomia foliar de *Verbena litoralis* Kunth. (Verbenaceae). **Revista Fitos**, São Paulo, v. 13, n. 4, p. 254-260, 2019.
- ATKINS, S.; ALVES, R.; KOLBECK, J. Plants in Peril, 23 *Stachytarpheta Sellowiana*. **Curtis's Botanical Magazine**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 33-35, Feb. 1996.
- BJORKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. *In*: LANGE, O. L. *et al.* (Ed.). **Physiological of plant ecology I**. New York: Springer, 1981. v. 12, p. 57-107.
- BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo, Alto, v. 28, p. 355-377, June 1977.
- COSTA, C. G. *et al.* Xilema. *In*: APEZZATO-DA-GLORIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia vegetal**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. p. 129-154.
- DUBBERSTEIN, D. **Diversidade genética de 43 genótipos de *Coffea Canephora*; e implicações do aumento de temperatura e déficit hídrico ao *Coffea spp.*** 2019. Tese (Doutora em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2019.
- FERREIRA, D. C.; CAMARGOS, N. M. de S. A natureza do cerrado e a implantação de sistemas agroflorestais para recuperação de áreas degradadas no município de Itapuranga-Goias-Brasil. **Revista Presença Geográfica**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 118-131, 2016.
- GAVILANES, M. L. *et al.* Leaf structure of *Byrsonima coccolobifolia* Kunth. (Malpighiaceae) in a savannah and rupestrian field environment. **Research, Society and Development**, Washington, v. 9, p. 12, p. 1-39, 2020.
- GIVNISH, T. J. Leaf and canopy adaptations in tropical forests. *In*: MEDINA, E.; MOONEY, H. A.; VASQUEZ-YANKEES, C. **Physiological ecology of plants in the wet tropics**. The Hague: Dr. W. Junk Publishers, 1984. p. 51-84.
- IDU, M.; ERHABOR, J. O.; ODIA, E. A. Morphological and anatomical studies of the leaf and stem of some medicinal plants: *stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. and *S. cayennensis* (LC Rich) Schau. **Ethnobotanical Leaflets**, [S.l.], v. 9, n. 11, p. 1417-1425, 2019.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES (IUCN). **The IUCN Red List of Threatened Species - Version 2017-3**. Cambridge: IUCN, 2017. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 5 dez. 2018.

IROKA, C. F.; OKEKE, C. U.; OKEREKE, C. N. Systematic implications of trichomes in the species of *Stachytarpheta* found in Awka, Nigeria. **Asian Journal of Plant Science and Research**, [S.l.], v. 5, n. 4, p. 30-34, Jan. 2015.

JUDD, W. S. *et al.* **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632 p.

JUSTO, C. F. *et al.* Leaf anatomical plasticity of *Xylopia brasiliensis* Sprengle (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 19, n. 1, p. 111-123, 2005.

LLERAS, E. Differences in stomatal number per unit are within the same species under different micro-environmental conditions: a working hypothesis. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 7, n. 4, p. 473-476, dez 1974.

MARQUES, A. R. *et al.* Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. **Tropical Ecology**, Varanasi, v. 41, p. 47-56, Jan. 2000.

MENEZES, N. L. de; SILVA, D. da C.; PINNA, G. F. de A. M. de. Folha. In: APEZZATO-DA-GLORIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia vegetal**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2012. 408 p.

MILANEZE-GUTIERRE, M. A. *et al.* Caracterização morfológica dos tricomas foliares e caulinares de duas espécies de Lamiaceae conhecidas popularmente como “falso-boldo”. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 29, n. 2, p. 125-130, 2007.

MIOLA, D. T. B. **Uma breve história do campo rupestre, ecologia, conservação e política ambiental**. 2019. Tese (Doutorado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

NOBEL, P. S. Internal leaf área and cellular CO₂ resistance: photosynthetic implication of variations with growth conditions and plant species. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 40, n. 2, p. 137-144, June 1977.

PANDEY, S.; NAGAR, P. K. Patterns of leaf surface wetness in some important medicinal and aromatic plants of Western Himalaya. **Flora**, London, v. 198, n. 5, p. 349-35, Dec. 2003.

PASCUAL, M. E. *et al.* *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerik, v. 76, n. 3, p. 201-214, Aug. 2001.

PEARCE, D. W. *et al.* Características estomáticas de espécies ribeirinhas de álamo em um ambiente semi-árido. **Tree Physiology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 211-218, Feb. 2006.

ROSSATTO, D. R.; HOFFMANN, W. A.; FRANCO, A. C. Características estomáticas de pares congêneros de cerrado e mata de galeria crescendo numa região transicional no Brasil Central. **Acta Botânica Brasileira**, Porto Alegre, v. 23, n. 2, p. 499-508, jun. 2009.

SCATENA, V. L.; SCREMIN-DIAS, E. Parênquima, colênquima e esclerênquima. *In:* APEZZATO-DA-GLORIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia vegetal**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. p. 109-119.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704 p.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. São Paulo: Artmed, 2017. 888 p.

TOZIN, L. R. S. **Tricomas glandulares em *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) do Cerrado**: morfologia, densidade e secreção em diferentes populações. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Botânica) - Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, 2014.

ANEXO A – ANÁLISE DE SOLO


Universidade Federal de Lavras

 Laboratório de Análises de Solo
 Departamento de Ciência do Solo

Solicitante: THAINÁ DE OLIVEIRA

Cidade: Lavras - MG

Endereço: SERRA DO CAMPESTRE

Telefone: (35)9 9104-9190

Bairro:
Município: Lavras - MG

Valor: 47,50

Entrada: 18/03/2020

Saída: 24/04/2020

CEP:
Resultados Analíticos

Protocolo	Identificação Amostra	pH(KCl)	pH	K	P	Na	Ca	Mg	Al	H+Al
				----- mg/dm ³ -----			----- cmolc/dm ³ -----			
763	AMOSTRA 1	-	5,4	46,26	1,70	-	0,41	0,15	0,10	2,10
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Protocolo	SB	t	T	V	m	M.O.	P-Rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S
	----- cmolc/dm ³ -----			----- % -----		dag/kg	mg/L	----- mg/dm ³ -----					
763	0,68	0,78	2,78	24,41	12,82	1,10	40,50	1,10	73,70	6,90	0,00	0,06	3,10
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Protocolo	Classificação do Solo	Argila	Silte	Areia	Areia(Grossa)	Areia(Fina)
		----- dag/kg -----				
763	solo tipo1	8	16	76	-	-
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-

 pH em água, KCl e CaCl₂ - Relação 1:2,5

Ca - Mg- Al- Extrator: KCl - 1 mol/L

SB= Soma de Bases Trocáveis

CTC (T) - Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0

m= Índice de Saturação de Alumínio

P-rem: Fósforo Remanescente

S - Extrator - Fosfato monocalcício em ácido acético

P- Na - K- Fe - Zn- Mn- Cu- Extrador Mehlich 1

H + Al- Extrator: SMP

CTC (t) - Capacidade de Troca Catiônica Efetiva

V= Índice de Saturação de Bases

 Mat. Org. (MO) - Oxidação: Na₂Cr₂O₇ 4N+ H₂SO₄ 10N

B- Extrator água quente

Solo Tipo 1: Textura Arenosa

Solo Tipo 2: Textura Média

SoloTipo 3: Textura Argilosa

 Márcio da Silva Marques
 Departamento de Ciências do Solo/ UFLA
 Químico responsável CRQ: 02102206

ANEXO B – EXSICATA DA ESPÉCIE



EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS



Avenida José Cândido da Silveira, 1647, Bairro União - Belo Horizonte - Minas Gerais – Brasil
 CEP 31.170-495 - Fone: 31 3489-5069 - Fax: 31 34895064
 E-mail: herbario@epamig.br ou andreiasilva@epamig.br

DECLARAÇÃO

Declaro que Thainá de Oliveira, estudante da Universidade Federal de Lavras (UFLA), depositou no Herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), exsicata (exemplar-testemunho) da espécie abaixo, coletada em Lavras, MG.

Espécie	Família	Registro PAMG
<i>Stachytarpheta sellowiana</i> Schauer	Verbenaceae	58889

Belo Horizonte, 13 Julho de 2021.

Andréia Fonseca Silva
 957.639.106-72

Pesquisadora da EPAMIG, Curadora do Herbário PAMG
 Herbário PAMG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)
 Instituição Fiel Depositária, conforme Deliberação N° 45, de 18 de Dezembro de 2003