

LUCIANA MARQUES DE CARVALHO

**DISPONIBILIDADE DE ÁGUA, IRRADIÂNCIA E HOMEOPATIA NO
CRESCIMENTO E TEOR DE PARTENOLÍDEO EM ARTEMÍSIA**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós Graduação em
Fitotecnia, para obtenção do título
de “Doctor Scientiae”.

VICOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2001

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

C331d
2001

Carvalho, Luciana Marques de, 1971-

Disponibilidade de água, irradiância e homeopatia no
crescimento e teor de partenólídeo em artemísia / Luciana
Marques de Carvalho. – Viçosa : UFV, 2001.

139p. : il.

Orientador: Vicente Wagner Dias Casali

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Viçosa

1. Artemísia - Crescimento. 2. Artemísia - Estresse hí-
drico. 3. Artemísia - Sombreamento. 4. Artemísia - Parte-
nolídeo. 5. Homeopatia. 6. *Tanacetum parthenium*. 7.
Plantas medicinais - Cultivo. I. Universidade Federal de
Viçosa. II. Título.

CDD 19.ed. 633.88355

CDD 20.ed. 633.88355

LUCIANA MARQUES DE CARVALHO

**DISPONIBILIDADE DE ÁGUA, IRRADIÂNCIA E HOMEOPATIA NO
CRESCIMENTO E TEOR DE PARTENOLÍDEO EM ARTEMÍSIA**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia, para obtenção do título
de "Doctor Scientiae".

APROVADA: 9 de novembro de 2001

Prof. Luiz Cláudio de A. Barbosa
(Conselheiro)

Prof. Paulo Roberto Cecon
(Conselheiro)

Prof. Paulo Roberto Mosquim

Prof. José Emílio Z. de Oliveira

Prof. Vicente Wagner Dias Casali
(Orientador)

Ao Marcelo e ao André,
com todo amor e carinho

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Amélia e Fernando, e à tia Nerina, pelo carinho, pelo incentivo e pela dedicação.

A todos meus familiares, em especial a minha avó Lulu, que sempre acreditou muito em mim, pelo carinho e pelas orações nos momentos difíceis.

Ao amigo Daniel, por ter me mostrado um novo caminho e por ter aberto uma porta para mim na hora certa.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Vicente Casali, pela valiosa orientação, pela dedicação e pela amizade.

Aos professores Paulo Cecon e Luiz Cláudio, pelo auxílio nas análises estatísticas e químicas e pela dedicação.

Aos professores Eldo, Aristéa, Fernando, Renata e Rosana, pelo apoio nos estudos anatômicos, pelo carinho e agradável convivência.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Fitotecnia seu Vicente, seu Quim Quim, Ribeiro, Eva, Paulo, Mara e Vicente, pelo apoio e pela amizade.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Biologia Vegetal Rosane, Zilda, Antônio Cordeiro, Carlos, Reginaldo, José Antônio, pelo apoio e pela amizade.

Aos técnicos, funcionários, colegas e demais usuários do Laboratório de Análise e síntese de Agroquímicos e do Laboratório de Física do Solo pelo apoio e pela boa convivência.

A todos os colegas, funcionários e professores da Universidade Federal de Viçosa, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Luciana Marques de Carvalho, filha de Fernando Pires de Carvalho e Amélia Marques de Carvalho, nasceu em Belo Horizonte, Minas Gerais, no dia 8 de abril de 1971.

Iniciou, em 1989, o curso de Ciências Biológicas, na Universidade Federal de Minas Gerais, concluindo-o em 1993.

Foi bolsista de Iniciação Científica da FAPEMIG, no período de novembro de 1991 a julho de 1993, no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Minas Gerais.

Em março de 1994, iniciou o curso de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, em nível de mestrado, concluindo-o em 8 de novembro de 1996 na Universidade Federal de Viçosa.

Em agosto de 1997, iniciou o Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, em nível de doutorado, na Universidade Federal de Viçosa.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1- CRESCIMENTO, ANATOMIA FOLIAR E TEOR DE AÇÚCARES E DE PARTENOLÍDEO EM ARTEMÍSIA.....	5
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
2.1 Plantas.....	8
2.2 Instalação do Experimento e Análise Estatística.....	8
2.3 Crescimento.....	10
2.4 Extração e Determinação de Açúcares.....	11
2.5 Extração e Determinação de Partenolídeo.....	13
2.6 Estudo Anatômico.....	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
3.1 Crescimento e Desenvolvimento.....	16
3.2 Anatomia Foliar.....	23
3.3 Teor de Partenolídeo.....	26
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	29
CAPÍTULO 2- EFEITO DA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO SOBRE O CRESCIMENTO, ANATOMIA FOLIAR E TEOR DE PROLINA, DE CLOROFILA E DE PARTENOLÍDEO EM ARTEMÍSIA.....	30
1. INTRODUÇÃO.....	30
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.1 Plantas.....	34
2.2 Tratamentos.....	35

2.3 Instalação do Experimento e Análise Estatística.....	36
2.4 Crescimento.....	38
2.5 Determinações Bioquímicas e Fisiológicas.....	38
2.6 Extração e Determinação de Partenólídeo	39
2.7 Estudo Anatômico.....	40
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.1 Crescimento e Desenvolvimento.....	42
3.2 Anatomia Foliar.....	50
3.3 Aspectos Metabólicos.....	51
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	59
CAPÍTULO 3 - EFEITOS DA IRRADIÂNCIA NO CRESCIMENTO, PRODUÇÃO DE AÇÚCARES E DE PARTENOLÍDEO EM ARTEMÍSIA.....	60
1. INTRODUÇÃO.....	60
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	63
2.1 Plantas.....	63
2.2 Tratamentos.....	63
2.3 Instalação do Experimento e Análise Estatística.....	64
2.4 Crescimento.....	66
2.5 Avaliação do Metabolismo Primário.....	67
2.6 Extração e Determinação de Partenólídeo.....	68
2.7 Estudo Anatômico.....	69
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
3.1 Crescimento.....	71
3.2 Metabolismo Primário	76
3.3 Densidade de Tricomas.....	84
3.4 Metabolismo Secundário.....	85
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	88
CAPÍTULO 4 - HOMEOPATIA EM ARTEMÍSIA.....	89
1. INTRODUÇÃO.....	89
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	92
2.1 Efeito da Homeopatia <i>Arnica montana</i> , preparada em escala decimal, sobre Artemísia.....	93
2.1.1 Preparo das Soluções Homeopáticas.....	93
2.1.2 Estudo Estatístico.....	93
2.1.3 Tratamentos.....	94
2.1.4 Crescimento.....	94

2.1.5 Extração e Determinação de Partenolídeo.....	95
2.2 Efeito da Homeopatia <i>Arnica montana</i> , preparada em escala centesimal, sobre Artemísia.....	96
2.3 Efeito do Tratamento Homeopático na recuperação de plantas de Artemísia submetidas à deficiência hídrica.....	96
2.3.1 Tratamentos.....	97
2.3.2 Determinações Bioquímicas e Fisiológicas.....	98
2.3.3 Estudo Estatístico.....	98
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	99
3.1 Efeito da Homeopatia <i>Arnica montana</i> , preparada em escala decimal, sobre Artemísia.....	99
3.2 Efeito da Homeopatia <i>Arnica montana</i> , preparada em escala centesimal, sobre Artemísia.....	104
3.3 Efeito do tratamento homeopático na recuperação de plantas de Artemísia submetidas à deficiência hídrica.....	107
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	115
RESUMO E CONCLUSÕES.....	117
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	120
APÊNDICE.....	130

RESUMO

CARVALHO, Luciana Marques de, D.S., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2001. **Disponibilidade de água, irradiância e homeopatia no crescimento e teor de partenólídeo em *Artemísia***. Orientador: Vicente W. Dias Casali. Conselheiros: Paulo Roberto Cecon e Luiz Cláudio de A. Barbosa.

A planta medicinal *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip tem ganhado grande importância nos últimos anos devido as suas propriedades profiláticas no tratamento da enxaqueca. O presente trabalho teve por finalidade caracterizar o crescimento, anatomia foliar, teor de partenólídeo, o princípio ativo mais característico das plantas de *T. parthenium*, e determinar os níveis mais adequados de umidade no substrato dos vasos, de irradiância e os efeitos da homeopatia nessas plantas durante seu crescimento. Dentre as condições hídricas estudadas, o nível de menor disponibilidade hídrica no substrato, 50% da capacidade de campo, causou aumento de mais de 100% no teor de prolina, redução na altura, no número de folhas, na área foliar, na massa fresca e seca e no teor de partenólídeo. Crescimento máximo foi obtido pelas plantas crescidas a 70 e 90% da capacidade de campo e teor máximo de partenólídeo ocorreu nas plantas crescidas na capacidade de campo. A redução no nível de irradiância luminosa (30 e 50% de sombreamento) das plantas causou aumento no crescimento em altura e na área foliar total. A produção de folhas, no entanto, não foi alterada. O sombreamento causou ainda atraso no florescimento e redução no acúmulo de açúcares solúveis e de amido nas folhas expandidas do terço superior das plantas. A condição de luminosidade

que propiciou maior crescimento das plantas e maior teor de partenólídeo foi a de pleno sol, sendo que nessas plantas houve maior redução no teor de partenólídeo com o tempo em dias após início do experimento. A aplicação da homeopatia *Arnica montana*, preparada em escala decimal, independente da presença de adubação orgânica por cobertura, não alterou o número de folhas produzidas, teve pouco efeito no crescimento em altura, mas causou aumento no acúmulo de massa fresca e seca e redução no teor de partenólídeo, exceto na potência D3 que não diferiu do controle, e acelerou o foescimento. As plantas tratadas com *Arnica* D5 destacaram-se devido a maior altura e maior número de inflorescências. Ao contrário da *Arnica montana*, escala decimal, os efeitos da aplicação da *Arnica montana*, escala centesimal, diferiram em função da presença de adubação orgânica em cobertura. As plantas adubadas e tratadas com *Arnica* C1 obtiveram maior número de folhas e de inflorescências. O teor de partenólídeo foi menor nas plantas tratadas com *Arnica* centesimal, particularmente com C3 e C5. A aplicação da homeopatia em plantas condicionadas previamente, por um mês, a deficiência hídrica, não causou alteração significativa no crescimento das plantas. No entanto a aplicação tanto de *Natrum muriaticum*, quanto do nosódio, causou aumento no teor de clorofila e de prolina nas plantas sadias e redução nas plantas doentes. O efeito da homeopatia *Natrum muriaticum* foi mais lento e prolongado do que o efeito do nosódio.

ABSTRACT

CARVALHO, Luciana Marques de, D.S., Universidade Federal de Viçosa, november 2001. **Water availability, photon irradiance and homeopathy on growth and parthenolide content in feverfew.** Adviser: Vicente W. Dias Casali. Committee members: Paulo Roberto Cecon and Luiz Cláudio de A. Barbosa.

Feverfew (*Tanacetum parthenium* L. Schultz-Bip.) has a long history of use as a herbal treatment for ailments. Currently, the most extensive use of the plant is for migraine prophylaxis. The objective of this study was to characterize the growth, the leaf anatomy, the parthenolide content, the most active principle of *T. parthenium*, and to determine the best moisture availability levels in the soil, light regimes and the effects of the homeopathy in those plants during their growth. Among the studied water conditions, the level of smaller amount of water in the soil, 50% of the field capacity, it caused increase of more than 100% in the proline content, reduction in the height, in the number of leaves, in the leaf area, in the fresh and dry weight and in the parthenolide content. Maximum growth was obtained by the plants grown at 70 and 90% of the field capacity and maximum content of parthenolide happened in the plants grown in the field capacity. The reduction in the photon irradiance level (shadow of 30 and 50%) it caused increase in the height and in the leaf area. The number of leaves, however, there was not change by the shadow. The shadow still caused delay in the flowering and reduction in the soluble sugars and starch content of the expanded leaves of the superior third of the plants. The condition of brightness that propitiated larger growth to the plants and parthenolide content

went to of full sun, and in those plants there was larger reduction in the parthenolide content with the time in days after beginning of the experiment. The application of the homeopathy *Arnica montana*, prepared in decimal scale, independent of the presence of organic manure for covering, it didn't change the number of leaves, There was a little effect in the growth in height, but it caused increase in the accumulation of fresh mass and it evaporates, except in the potency D3, and it accelerated the flowering. The plants with Arnica D5 stood out due to larger height and larger inflorescence number. The parthenolide content decreased with the application of *Arnica montana*, it climbs decimal, except in the potency D3, that didn't differ of the control. Unlike the *Arnica montana*, it climbs decimal, the effects of the application of the Arnica montana, it climbs centesimal, they differed in function of the presence of organic manure in covering. The fertilized plants with Arnica C1 they obtained larger number of leaves and of inflorescence. The parthenolide content was smaller in the plants with centesimal Arnica, particularly with C3 and C5. The application of the homeopathy in plants conditioned previously, for one month, to the deficiency hídrica, didn't cause significant alteration in the growth of the plants. However the so much of *Natrum muriaticum* application as of the isopathy it caused increase in the chlorophyll content and of prolina in the healthy plants and reduction in the sick plants. The effect of the homeopathy *Natrum muriaticum* was slower and lingering than the effect of the isopathy.

INTRODUÇÃO GERAL

O uso de plantas medicinais tem sido consagrado em épocas diversas da história. O homem da pré-história, consciente da importância das plantas na sua sobrevivência, iniciou a revolução agrícola, que marcou o despontar da civilização entre os séculos X e VIII a.C., com a domesticação das plantas alimentícias. É fácil supor que aquele homem já entendia a possibilidade de tratar suas doenças e ferimentos externos com órgãos vegetais de plantas com propriedades curativas, que já existiam nas três regiões principais de domesticação de plantas: o Oriente Médio, o nordeste da China e a Mesoamérica (GIACOMETTI, 1989).

Nas últimas décadas têm-se testemunhado o retorno do interesse e uso de plantas medicinais e seus derivados. Nos Estados Unidos, por exemplo, pesquisas mostram que em 1991 houve aumento de 3% na demanda de plantas medicinais e derivados, enquanto que em 1998 o aumento foi em torno de 37% (BRISKIN, 2000).

A utilização de plantas no tratamento de doenças, no Brasil de hoje, foi influenciada, fundamentalmente, pelas culturas indígena, africana e, naturalmente, européia. Os índios utilizavam a fitoterapia com base na visão mística e, também, pela observação de animais que procuravam determinadas plantas quando doentes. A influência africana é pouco conhecida, mas não menos relevante. Já a influência européia teve início com a vinda dos primeiros padres da Companhia de Jesus. Formulando receitas à base de plantas para o tratamento de doenças, disseminaram muitas espécies de origem européia. Hoje em dia, muitas dessas plantas reproduzem-se espontaneamente e formam outros genótipos ou variedades.

Durante os últimos 15-20 anos, a espécie *Tanacetum parthenium* tem recebido considerável atenção em razão das suas propriedades profiláticas com respeito à frequência e severidade dos ataques de enxaqueca (HEWLETT et al., 1996; WEBER et al., 1997). Essa planta, mais conhecida como artemísia, produz grande variedade de compostos secundários, como lactonas sesquiterpênicas, óleo essencial e taninos. No entanto, estudos recentes têm indicado o partenólideo, uma lactona sesquiterpênica, sintetizada e acumulada em glândulas bilobadas foliares como o principal componente farmacologicamente ativo dessas plantas, e principal responsável pela eficiência terapêutica contra a enxaqueca (DOLMAN et al., 1992; REY et al., 1992; HEWLETT et al., 1996; BROWN et al., 1997).

O alvo principal das pesquisas com plantas medicinais tem sido as áreas de fitoquímica, farmacognosia e horticultura. Na fitoquímica, as plantas são caracterizadas em função dos possíveis compostos bioativos, os quais têm sido separados e sujeitos à análise estrutural detalhada. Pesquisas na farmacognosia têm envolvido ensaios de bioatividade, identificação de modos de ação potenciais, e sítios alvo de compostos fitomédicos. As pesquisas dentro da horticultura têm se concentrado no desenvolvimento da capacidade de crescimento máximo, ou ótimo, das plantas. Isto é particularmente importante no caso das plantas medicinais que ainda são obtidas por extrativismo, cujas condições de cultivo ainda não são conhecidas. A coleta de plantas medicinais nativas pode ser problemática em termos de perda de biodiversidade, variação potencial na qualidade das plantas e ocasionalmente, identificação incorreta com conseqüências potencialmente trágicas (BRISKIN, 2000).

A qualidade do produto agrícola é influenciada por fatores pré - e pós-colheita, além da combinação de fatores que incluem componentes genéticos e ambientais. Mas, geralmente, a qualidade alcançada até o período da colheita tem importância fundamental. O cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares reveste-se de grande importância, pois vai suprir a crescente demanda de plantas medicinais, seguramente identificadas botanicamente, e de boa qualidade (CORRÊA JR. et al., 1994; WESTON e BARTH, 1997).

Durante o ciclo do dia, as plantas podem enfrentar alterações na temperatura, disponibilidade de água e umidade, e variações na quantidade de

luz. O ambiente em torno das plantas flutua regular e previsivelmente em ciclos diários e sazonais, assim, raramente é ótimo ao crescimento das plantas, tanto nos ecossistemas naturais quanto nos agrícolas (CHAPIN III, 1991; SMIRNOFF, 1995; SRIVASTAVA e STRASSER, 1996). Em decorrência disso, há necessidade dos vegetais se adaptarem ao ambiente. A adaptação pode ser definida como o ajuste entre o organismo e seu ambiente. Essa adaptação ocorre tanto genética quanto fisiologicamente. Algumas vezes, pode acontecer, no entanto, das capacidades de adaptação e de auto-regulação do equilíbrio dinâmico das plantas serem solicitadas em excesso, pela imposição de "sobrecargas anormais", estresses devido ao meio ambiente (PIANKA, 1982; LARCHER, 1986).

Condições desfavoráveis de crescimento podem causar alteração na produção de compostos secundários. Essas alterações metabólicas são importantes como mecanismos de defesa contra insetos e doenças, e podem causar aumento da tolerância a outras situações estressantes. A concentração de princípios ativos na planta, por exemplo, depende de controle genético e de estímulos proporcionados pelo meio. Assim, quando há deficiência ou excesso de algum fator de crescimento, a concentração pode ser alterada. Além disso, a variação em populações naturais de plantas e animais é a base da sua resistência perante às pressões ambientais, e é matéria prima da seleção natural, um dos processos responsáveis pela diversidade de vida existente na Terra (BROWN JR., 1988; EINHELLIG, 1996).

A definição de estresse, segundo Barrett (1981), citada por VOGT et al. (1993), inclui qualquer perturbação que é estranha ao ecossistema, ou, se natural, em taxas excessivas. O modo como as plantas respondem aos estresses induzidos pelo homem é complicado pelo fato delas crescerem e serem naturalmente adaptadas ao "ambiente estressante". É essencial, portanto, distinguir "respostas normais" daquelas que causam reduções significativas no crescimento, ou mesmo à mortalidade das plantas (VOGT et al., 1993). Segundo LEVITT (1982), estresse biológico pode ser definido como qualquer fator ambiental capaz de induzir alterações potencialmente prejudiciais nos organismos vivos.

A característica principal das plantas adaptadas a ambientes deficientes em algum recurso ambiental é o crescimento lento, mesmo quando são

supridas com tal recurso em quantidade ótima e equilibrada. O crescimento lento reflete a baixa capacidade de obter os recursos necessários, e ocorre em plantas adaptadas a ambientes inférteis, secos ou salinos ou muito sombreados. Além disso, as plantas crescem menos por causa da maior alocação de recursos a funções de sobrevivência em ambientes desfavoráveis (CHAPIN III, 1991).

O suprimento de água às plantas é de fundamental importância no crescimento e produção econômica. A deficiência de umidade no solo altera vários processos bioquímicos e fisiológicos nas plantas, e induz respostas metabólicas e fisiológicas como fechamento estomático, declínio na taxa de crescimento, acúmulo de solutos e antioxidantes, e expressão de genes específicos de estresse (SINGH-SANGWAN et al., 1994).

As variações na irradiância luminosa têm efeitos imediatos no metabolismo. Embora considerável quantidade de informação tenha sido publicada a respeito dos princípios e práticas caracterizando e descrevendo a produção primária, não se pode adaptar esses dados diretamente a produção de metabólitos secundários, por causa das circunstâncias especiais desses sistemas (HORNOK, 1992).

A maioria dos trabalhos sobre *T. parthenium* se refere ao (1) estudo dos constituintes químicos, como cumarinas, guaianolídeos (BEGLEY et al., 1989), óleo essencial e, principalmente, lactonas sesquiterpênicas; (2) métodos de extração de lactonas sesquiterpênicas (KERY et al., 1988; REY et al., 1992; SMITH e BUDFORD, 1992), técnicas cromatográficas (HENDRICKS et al., 1997), incluindo HPLC (HEWLETT et al., 1996), CO₂ supercrítico (CASTAÑEDA-ACOSTA et al., 1995) e (3) efeitos fármaco-médicos de seus principais constituintes, especialmente trabalhos tratando de enxaqueca (KÉRY et al., 1993; HEWLETT et al., 1996; PALEVITCH et al., 1997; WEBER et al., 1997), inibição da contração muscular (BÉJAR et al., 1996) e agregação de plaquetas (BROWN et al., 1997). São poucos os trabalhos relacionados às condições de cultivo (HENDRICKS et al., 1997). Assim o presente estudo visou conhecer as plantas de *T. parthenium* quanto às características do crescimento, anatomia foliar e conteúdo de partenólídeo, determinar os efeitos de quatro níveis de água no solo, de três níveis de irradiância e de algumas homeopáticas sobre o crescimento das plantas de *T. parthenium*.

CAPÍTULO 1

CRESCIMENTO, ANATOMIA FOLIAR E TEOR DE AÇÚCARES E DE PARTENOLÍDEO EM ARTEMÍSIA

1. INTRODUÇÃO

O crescente interesse na espécie *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz.-Bip. [sinonímia = *Chrysanthemum parthenium* L. Bern.] (Asteraceae) se deve a utilização na profilaxia da enxaqueca. No Brasil, essa planta é mais conhecida como artemísia, artemijo, artemigem-dos-jardins, monsenhor-amarelo, piretro-do-caucaso, minerva, margaridinha, matricária, macela-do-reino, camomila-pequena e macela-da-serra. Em Portugal, onde é mais conhecida como matricária e artemísia dos ervanários, é encontrada, principalmente, junto dos cursos de água, desde as províncias do Norte de Portugal, até o Alto Alentejo. Nos países de língua espanhola é mais conhecida como tanaceto, e nos países da América do Norte, em grande parte da Europa e na Nova Zelândia é mais conhecida como "feverfew", devido a sua utilização mais tradicional: antipirética. Essa planta é nativa na Grécia e em outros países do Sudeste Europeu e da Ásia Menor, ocorrendo, também, como ruderal no Oeste Europeu. Apesar de não ser nativa na Inglaterra, essa espécie encontra-se bem estabelecida no país, como acontece em outras regiões da Europa, América do Norte e do Sul e Nordeste da África (HENDRIKS et al., 1996; BROWN et al., 1999).

Tanacetum parthenium (L.) Schultz.-Bip. é perene, cultivada anual e fortemente aromática. Seu caule é vertical e ereto, rígido, coberto por pêlos, com altura variando de 25 a 120 cm. As folhas são amarelo-esverdeadas, brilhantes, profundamente recortadas, variando de peludas a glabras. As folhas mais baixas tendem a ovaladas, com longo pecíolo, e 3 a 7-pinadas. As folhas superiores têm pecíolos mais curtos. Suas flores, semelhantes às da margarida, são sempre reunidas em inflorescências típicas, o capítulo. O fruto seco e indeiscente, pode ser disperso pelo vento. O forte odor, característico da espécie, é devido às altas concentrações de terpenos voláteis, constituintes do óleo essencial, encontrado especialmente em folhas e flores (ABAD et al., 1995; BERRY, 1984; FIGUEIREDO, 1998).

O longo histórico do uso de *T. parthenium* no tratamento fitoterápico de várias doenças ou indisposições inclui problemas de pele e urinogenitais, o que levou alguns autores a denominarem-na "aspirina medieval". A infusão da erva é utilizada como antipirética, no tratamento da enxaqueca, reumatismo e dores menstruais. O extrato dessa planta é, tradicionalmente, utilizado em muitos países do hemisfério norte, como a Inglaterra, contra dores devido a cólicas menstruais, asma, artrite e psoríase (BURFORD e SMITH, 1989; BÉJAR, 1996; HEWLETT et al., 1996).

Segundo MARTINS et al. (1995), *T. parthenium* é indicada como antileucorréica, antiespasmódica, estomáquica, antipirética, contra dores de cabeça, enxaqueca, artrite, diarreia, perturbações gástricas e insônia. Entre as muitas atividades terapêuticas de *T. parthenium* cita-se, ainda, a inibição irreversível da contração muscular, efeitos anti-secretórios de algumas células, como leucócitos e plaquetas sangüíneas (BROWN et al., 1997). No final da década de 1980 estabeleceu-se novo elo entre as propriedades antiagregantes do extrato de *T. parthenium* e a presença nestes de lactonas sesquiterpênicas contendo grupos α -metil- γ -butirolactona (BEGLEY et al., 1989).

A artemísia (*T. parthenium*) produz cerca de trinta lactonas sesquiterpênicas, sendo o partenolídeo, identificado em 1982 no extrato da parte aérea dessas plantas, a lactona sesquiterpênica predominante nessas plantas (BOHLMANN e ZDERO, 1982; DOLMAN et al., 1992; KÉRY et al., 1993). Além disso, apesar desse composto ser encontrado também em outras plantas, é considerado o constituinte característico de *T. parthenium*. No

tratamento da enxaqueca, por exemplo, a dosagem comum de partenólídeo nos fitoterápicos é 0,2%. O extrato da parte aérea dessa planta contém, ainda, cânfora e acetato de chrisantenila, os quais são citados como os principais constituintes do óleo essencial de *T. parthenium* (BEGLEY et al., 1989; REY et al., 1992; HENDRIKS et al., 1996; HEWLETT et al., 1996; BROWN et al., 1997).

Estudos com células sangüíneas e plaquetas têm indicado o partenólídeo como o principal componente farmacologicamente ativo dessas plantas. O espectro de atividades biológicas do partenólídeo é bastante amplo e inclui propriedades citotóxicas, antibacterianas e antifúngicas, além da atividade anti-inflamatória e anti-reumática. (CASTAÑEDA-ACOSTA et al., 1995). O uso terapêutico dessa planta, particularmente contra enxaqueca e artrite, tem sido popularizado em tal extensão, que vários tipos de preparações comerciais dela obtidas, inclusive folhas desidratadas e moídas, estão à venda em muitas farmácias e lojas de produtos naturais, em várias partes do mundo. São correntemente utilizadas como fitoterápicos no controle da enxaqueca e artrite tanto preparações com folhas frescas, quanto com folhas secas, que estão mais disponíveis comercialmente (DOLMAN et al., 1992; WILLIAMS et al., 1995). O mecanismo de ação dessa substância está sendo muito estudado (WEBER et al., 1997).

O efeito negativo mais associado ao uso dessa espécie é a ocorrência de ulcerações na boca, o que na Homeopatia considera-se como indicativo na cura pelo princípio que "semelhante cura semelhante". Devido ao insuficiente conhecimento de sua toxicidade crônica e aguda, às ulcerações na boca, às dores abdominais e à insuficiência de dados relativos a teratogenicidade ou mutagenicidade causadas pelas lactonas, e ao risco de alergias em pacientes sensíveis, é necessária precaução na sua utilização (BERRY, 1984; FIGUEIREDO, 1998). As substâncias consideradas principais responsáveis pela toxicidade e dermatites de contato são, também, as lactonas (CASTAÑEDA-ACOSTA et al., 1995).

O estudo do crescimento é a quantificação das mudanças irreversíveis com o tempo, que implicam em alterações nas dimensões e, freqüentemente na forma das plantas (HUNT, 1989). O crescimento pode ser quantificado de várias maneiras. Em alguns casos, a determinação da altura é suficiente, mas

às vezes, maiores informações são necessárias, como, por exemplo, dimensões das folhas (comprimento, largura, área), massa da massa seca total, ou de órgãos individuais, como raízes, caule, folhas e frutos (MAGALHÃES, 1985). Como as folhas e inflorescências de *T. parthenium* são os órgãos mais utilizados, segundo vários autores, com fim medicinal, determinações do número de folhas e da área foliar são fundamentais na avaliação do crescimento dessa planta.

Os objetivos desse estudo foram (1) avaliar o crescimento das plantas de *T. parthenium*; (2) caracterizar as plantas quanto a aspectos da fisiologia e anatomia foliar; (3) determinar o teor de partenólídeo na parte aérea durante o crescimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Plantas

Plantas de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz.-Bip, foram obtidas de sementes cedidas pelo Grupo Entre Folhas (Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG). A semeadura foi realizada em bandejas de isopor, preenchidas com terra/areia, na proporção 2:1, respectivamente, no dia 27 de março de 1999. Após dois meses, plantas com aproximadamente 0,12 m de altura e cerca de 16 folhas foram transplantadas em vasos de dez litros, preenchidos com substrato constituído por terra: areia: esterco bovino curtido, na proporção 3:2:1.

2.2. Instalação do Experimento e Análise Estatística

O experimento foi conduzido a pleno sol em área do Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa (UFV, Viçosa), no período de maio a setembro de 1999. O nível de irradiância que alcançava as plantas, medido durante o experimento em três horários (8:30, 12:00 e 16:00 horas), por meio de radiômetro, foi 142, 730 e 338 $\mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente em cada horário. No Quadro 1 constam as condições ambientais ocorrentes durante o período experimental e na Figura 1 é mostrada a evolução do

comprimento do dia em Viçosa (20° 45' S). Verifica-se que o fotoperíodo natural em Viçosa (MG) está compreendido entre 10h e 45 minutos e 13h e 15 minutos, valores ocorrentes nos meses de junho e dezembro, respectivamente.

Quadro 1. Médias mensais dos dados meteorológicos de Viçosa, MG

Dados Meteorológicos	Meses						
	Março	Abril	Mai	Junho	Julho	Agosto	Setembro
Temp. média do ar (°C)	22,10	20,58	17,20	16,56	17,02	16,10	19,31
Temp. máxima do ar (°C)	28,52	27,76	25,35	24,54	24,38	25,91	27,06
Temp. mínima do ar (°C)	17,86	16,14	11,67	11,53	12,41	8,95	12,79
Umidade relativa média (%)	84,26	82,26	80,23	82,78	81,79	71,84	67,04
Velocidade média do vento (m/s)	1,46	0,98	1,15	0,89	0,96	0,91	1,73
Precipitação total (mm)	273,7	36,5	2,0	13,2	4,2	0,0	50,7
Evaporação média (mm)	2,55	2,48	3,09	2,70	2,62	4,02	5,19
Insolação média (h)	6,72	7,05	8,12	5,22	5,65	7,9	6,7

Fonte: Distrito Meteorológico de Viçosa (MG)

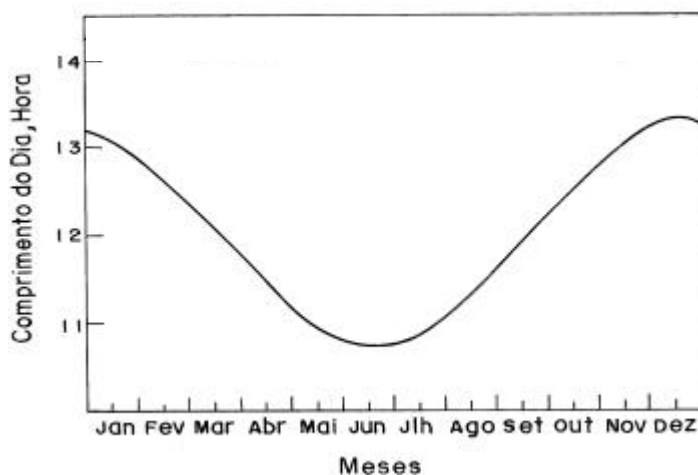


Figura 1. Evolução do comprimento do dia em Viçosa, MG.

As variáveis cuja determinação não requeria colheita da planta ou de parte dela foram analisadas considerando-se sete tratamentos (30, 60, 75, 90, 105, 120 e 135 dias). As demais variáveis tiveram seis tratamentos (60, 75, 90, 105, 120 e 135 dias). O experimento foi instalado no delineamento em blocos ao acaso, com seis tratamentos e quatro repetições. A unidade experimental constituiu-se de vasos de dez litros, com uma planta por vaso. Os dados foram submetidos a análise de variância e de regressão. Os modelos foram escolhidos baseando-se na significância dos coeficientes de regressão, por meio do teste de t, a 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação e no fenômeno em estudo.

2.3. Crescimento

Acompanhou-se o crescimento e desenvolvimento das plantas do dia 27 de maio a 8 de outubro de 1999, por meio de medições da altura, número de folhas, comprimento e largura da folha maior e da folha com dimensões médias, massa fresca e seca da parte aérea. A altura das plantas, o comprimento e a largura da folha maior e da média foram medidas, em cada época, por meio de régua milimetrada. O número de folhas em cada planta, incluindo as folhas em início de expansão, com cerca de 3,0 cm de comprimento, e as folhas em início de senescência; ou seja antes da abscisão foram contados. Em cada época de colheita, estimou-se, ainda, a área da folha maior, da folha com dimensões médias e da área foliar total de cada planta. Como o órgão da planta mais indicado com fins medicinais, segundo MARTINS et al. (1995), é a folha considerou-se interessante determinar não só o número de folhas e área foliar total de cada planta, mas também a área da folha maior e da folha de dimensões médias.

Na determinação da área foliar foi utilizado procedimento similar ao adotado por FIGUEIREDO (1998), em plantas de *T. parthenium*. Determinou-se o comprimento e maior largura das lâminas foliares maior e de dimensão média, por meio de régua milimetrada, e a área destas mesmas lâminas por meio do medidor de área foliar portátil Licor, modelo 3000. Esse mesmo procedimento foi repetido por mais três vezes com plantas em outros estádios de desenvolvimento. Esses dados foram, então, submetidos a análise de regressão múltipla visando estimar a equação que mais se ajustava aos dados:

$Y = 4,46065 + 1,15393C - 0,0241692C^2 - 5,03714L + 0,701271L^2 + 0,192815CL$, cujo coeficiente de determinação foi $r^2 = 0,9169$. Posteriormente, em cada época de colheita, foi possível estimar a área das folhas maior e de dimensão média sem retirá-las das plantas, procedendo-se apenas medidas de comprimento (C) e largura (L) máximas dessas lâminas foliares, por meio da equação obtida anteriormente. A área foliar total foi, em seguida, estimada pelo produto da área foliar média de cada planta pelo número de folhas.

As colheitas foram realizadas manualmente, cortando-se o caule rente ao solo com tesoura de poda, sempre no horário compreendido entre 17:00 e 18:00 horas. O número de folhas e as medições de altura e de área foliar foram feitas a partir de 30 dias após o transplante. A primeira colheita, no entanto, foi realizada apenas 60 dias após o transplante em vasos, e as colheitas seguintes foram quinzenais. As épocas de colheita foram determinadas com base nos resultados de HENDRIKS et al. (1997) e de FIGUEIREDO (1998) com plantas de *T. parthenium*. As plantas coletadas em cada época foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e levadas à sala de secagem do Grupo Entre Folhas, onde permaneceram espalhadas em bandejas, a temperatura ambiente e umidade controlada em 50%, por meio de desumidificador. Após cerca de vinte dias determinou-se, em balança analítica, a massa dessas plantas, que foi denominada de massa seca da parte aérea. Posteriormente, as plantas foram embaladas em sacos de polipropileno e armazenadas em "freezer" a - 40 °C, com o fim de preservar o princípio ativo de possíveis contaminações fúngicas, até sua utilização na extração de partenólídeo, aproximadamente cinco meses depois.

2.4. Extração e Determinação de Açúcares

O teor de açúcares solúveis e de amido foi estimado a partir de amostras das folhas expandidas do 2° e 3° nó, a partir do ápice, em todas as épocas de colheita. As amostras de folhas frescas foram congeladas com nitrogênio líquido, acondicionadas em sacos de polipropileno e armazenadas em "freezer" a - 40 °C até sua utilização na extração dos açúcares.

O extrato destinado a determinação de açúcares solúveis totais e de redutores foi obtido da maceração de 300 mg de amostra foliar, em almofariz e

pistilo, utilizando-se etanol aquoso 80% v/v, fervente. O macerado obtido foi centrifugado a 3000 g, durante 10 minutos, sendo o precipitado ressuspensionado e centrifugado por mais duas vezes. O volume final foi ajustado em 25 mL, com etanol aquoso 80% v/v. Desse extrato etanólico, uma alíquota de 10 mL foi colocada em funil de separação com igual volume de clorofórmio. Após agitação e cinco minutos de repouso, a fase aquosa (etanol-água) foi coletada, e a fase clorofórmica foi submetida a lavagens sucessivas com 1 mL de água destilada, sendo estas fases aquosas combinadas com a anterior. O extrato aquoso combinado foi evaporado em evaporador rotativo à vácuo, a 45 °C. Após a evaporação, o resíduo foi ressuspensionado em 3 mL de água destilada e reservado para posterior determinação do teor de açúcares solúveis totais.

A determinação do teor de açúcares solúveis totais foi, então, realizada, colocando-se alíquotas desse extrato e de água destilada, em tubos testes, em banho de gelo, e posteriormente adicionando 5 mL do reativo de antrona (0,1 g de antrona em 100 mL de ácido sulfúrico 28N). Após agitação e dez minutos de banho maria (100 °C) resfriou-se os tubos e efetuou-se as leituras das amostras em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 620 nm (HODGE e HODFREITER, 1962, GOMES, 2000). O teor de açúcares redutores foi determinado conforme metodologia descrita por NELSON (1944) e SOMOGY (1952) e os açúcares não redutores foram estimados por meio da diferença entre o teor de açúcares solúveis totais e de açúcares solúveis redutores (GOMES, 2000).

Na extração de amido foi utilizado o resíduo proveniente da extração de açúcares solúveis totais, ressuspensionado em 5,75 mL de ácido perclórico a 30% e mantido em repouso por 30 minutos, com agitações ocasionais. A suspensão foi, então, centrifugada a 3000 g durante dez minutos. Esse procedimento foi repetido por mais duas vezes, sendo o precipitado descartado e os sobrenadantes combinados. O volume final foi ajustado, com água destilada, em 50 mL. A determinação do teor de amido foi feita em alíquota do extrato, por meio da reação com antrona (McCREADY et al., 1950, citado por GOMES, 2000).

2.5 Extração e Determinação de Partenolídeo

O partenolídeo (Figura 2), princípio ativo mais característico dessas plantas, foi extraído da parte aérea das plantas (folhas, botões florais e inflorescências), de acordo com método descrito por BROWN et al. (1997; 1999), com adaptações. Hastes ou ramos mais espessos das plantas foram removidos, a fim de facilitar a moagem, e folhas e inflorescências foram moídas em moinho mecânico e utilizadas na extração. Amostras de 200 mg da parte aérea das plantas foram homogeneizadas em 16 mL de clorofórmio e em seguida, submetidas a "banho maria" com ultrassom por 15 minutos. Posteriormente, esse extrato foi filtrado em funil de vidro com papel filtro Whatmann nº 1. O filtrado foi, então, levado ao evaporador rotativo a 38 °C, visando eliminação completa do solvente. Após pesagem do resíduo sólido, este foi ressuspensionado em clorofórmio e acondicionado em frascos com tampa rosqueável, onde foi deixado por cerca de 12 a 15 horas, à temperatura ambiente, até completa evaporação do solvente. As condições de determinação do teor de partenolídeo em cada amostra foram similares às descritas por HENDRIKS et al. (1997).

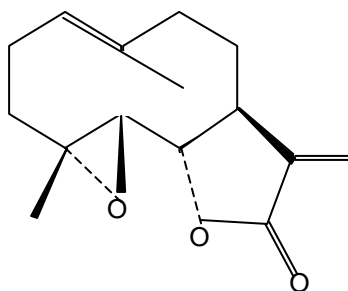


Figura 2. Estrutura do partenolídeo, principal princípio ativo das plantas de *Tanacetum parthenium*.

Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa, utilizando-se aparelho Shimadzu, modelo GC - 17A, equipado com detector de ionização de chama, acoplado a registrador e integrador C-R6A Cromatopac. A coluna utilizada foi a capilar SBP-5 (Supelco), com 30 cm de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno, e filme com espessura de 0,25 µm. O gás carreador

foi o nitrogênio. As temperaturas utilizadas no injetor (270 °C) e no detector (300 °C) foram definidas durante os testes preliminares. A temperatura da coluna durante a extração aumentou de 220 a 250 °C, com isoterma de dez minutos em 250 °C.

As amostras do extrato foram precisamente pesadas (cerca de 10 mg) e diluídas em 10 mL de clorofórmio, sendo injetado 1 µL do extrato no cromatógrafo. Essas alíquotas (1 µL) do extrato total foram analisadas para a quantificação do teor de partenólídeo, por referência com curva padrão. Esta foi construída utilizando-se dados de injeções de 50 a 250 ppm do padrão comercial de partenólídeo, dissolvido em clorofórmio.

O teor de partenólídeo nas amostras foi expresso de duas formas: (1) teor de partenólídeo por planta individual, em relação a massa seca da parte aérea (em miligrama) e (2) teor de partenólídeo em 100 gramas de massa seca (porcentagem).

2.6 Estudo Anatômico

Durante as colheitas da parte aérea das plantas retirou-se seções foliares, com aproximadamente 5 mm, de cada planta, para a montagem de lâminas permanentes com cortes transversais e seções foliares com cerca de 1 cm² destinadas a diafanização.

As seções foliares menores foram feitas, procurando-se evitar a região das nervuras, a partir das folhas expandidas do segundo ou terceiro par a partir do ápice. Imediatamente após a seção das folhas, as amostras foram fixadas em solução de formol - ácido acético - etanol aquoso 50% v/v, (FAA) 50% v/v na proporção 1:1:9 v/v, submetidas à vácuo a fim de facilitar a infiltração do fixador (JOHANSEN, 1940). Após 24 horas, a solução de FAA foi retirada, as amostras foram lavadas e iniciou-se, no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, a etapa de desidratação etílica progressiva a partir da solução aquosa de etanol 70% v/v. Na etapa seguinte, as amostras foram submetidas à inclusão em historresina (Technovit 100, da Khulzer). As seções foliares foram, então, colocadas primeiro numa mistura de etanol 95% v/v e resina (solução de infiltração Technovit 100, da Khulzer), onde permaneceu por quatro horas. Em seguida foram colocadas em solução de infiltração pura por 24 horas, e finalmente em solução de inclusão (15 mL da

solução de infiltração e 1 mL do endurecedor, Technovit 100, da Khulzer). Posteriormente essas amostras foram emblocadas em moldes plásticos e colocadas em estufa a 50 °C até ocorrer a polimerização da mistura. Nos blocos, assim obtidos, foram feitos cortes transversais de 7 µm de espessura por meio de micrótopo rotativo (LEICA, 2045, da Multicult), os quais foram distendidos em lâminas de vidro. Em seguida, os cortes, foram coloridos com azul de toluidina, e montados entre lâmina e lamínula com bálsamo do Canadá (BERLYN e MIKSCHE, 1976).

Nessas lâminas foram feitas medições da espessura da lâmina foliar, das epidermes, do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso e das células epidérmicas, com o auxílio de ocular de tambor micrométrico em dez campos microscópicos de cada amostra em estudo. A observação e documentação foram feitas em fotomicroscópio Olympus, modelo AX70, equipado com sistema fotográfico U-photo, no Laboratório de Anatomia vegetal.

As amostras foliares destinadas a diafanização foram fixadas em solução aquosa de etanol 50% v/v, onde permaneceram por uma semana, quando foram submetidas a hidratação com soluções aquosas de etanol, a partir de etanol aquoso 50% v/v até água. Em seguida, foram colocadas primeiro em solução de hidróxido de sódio (NaOH) 10% v/v, por cerca de duas horas, depois em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 20% v/v, por cerca de três horas, e por último em solução de cloral hidratado (CCl₃CHO · H₂O) 10% v/v, por cerca de uma hora. Os segmentos, antes de serem colocados nessas soluções, foram lavados exaustivamente com água destilada, eliminando-se, assim, resíduos da solução anterior. Posteriormente, iniciou-se a desidratação com soluções aquosas de etanol, de etanol 30% v/v até etanol 50% v/v, quando foi submetido a coloração com fucsina ácida e azul de Astra (JOHANSEN, 1940). Em seguida, continuou-se a desidratação com soluções aquosas de etanol, com etanol/água 90 e 100% v/v e soluções de etanol 100% com xilol, nas proporções de 3:1, 1:1 e 1:3, e com solução de xilol puro. Posteriormente, as seções foram, então, montadas em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá. Nas lâminas diafanizadas identificou-se os tricomas presentes e estimou-se a densidade de tricomas tectores e glandulares.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Crescimento e desenvolvimento

Durante as fases iniciais de crescimento das plantas de *Tanacetum parthenium*, Figura 3 (a-b), muitas folhas se formaram. Segundo HENDRIKS et al. (1997), essa fase ocorre até que as plantas alcancem cerca de 15-20 cm de altura. Até este ponto, atingido no final do mês de junho, 30 dias após o transplante em vasos, todas as folhas surgiam a partir do ponto basal comum. Em seguida, cerca de 60 dias após o transplante, longas hastes e ramos laterais desenvolveram-se, propiciando a formação de novas folhas e modificando o aspecto geral da planta, Figura 3 (b). Com a emissão das hastes e ramos laterais, a dimensão das folhas diminuiu, mas as plantas continuaram a crescer em altura. Posteriormente, aproximadamente 90 dias após o transplante em vasos, no final do mês de agosto, quando o fotoperíodo de Viçosa começou a aumentar, desenvolveram-se botões florais nas extremidades dessas hastes, e 135 dias após o transplante cada planta tinha, em média, 45 inflorescências, Figura 3 (c).

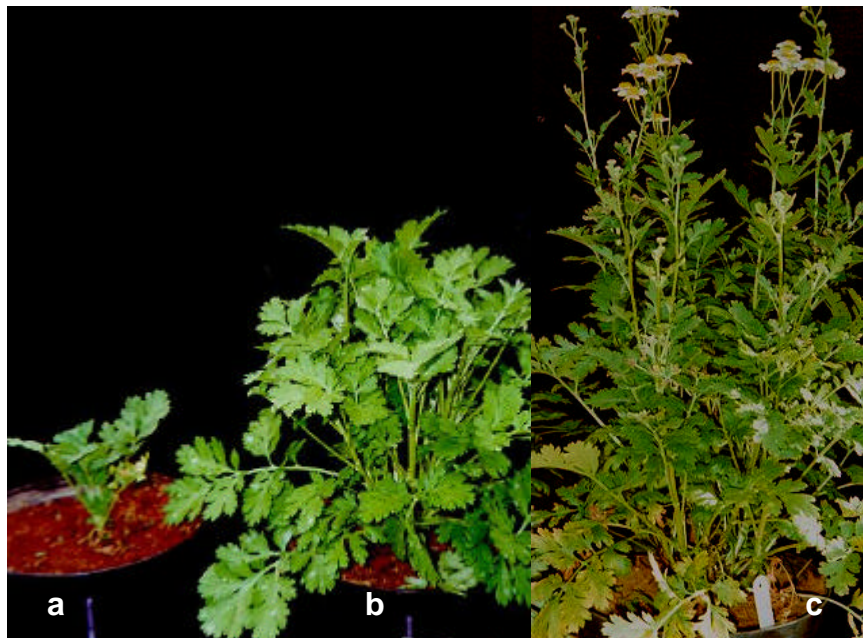


Figura 3. Plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a pleno sol, em Viçosa, MG, em vasos de 10 L, de maio a outubro de 1999, em três fases do desenvolvimento: (a) início do crescimento vegetativo, (b) em pleno crescimento vegetativo e (c) em pleno desenvolvimento reprodutivo.

As variáveis altura das plantas, Figura 4 (a), massa fresca da parte aérea, Figura 4 (b), e número de folhas, Figura 5 (a), tiveram comportamento linear de maio a outubro de 1999. A partir disso, sugere-se que as plantas quando da última colheita continuavam em crescimento. FIGUEIREDO (1998) obteve resultados similares, com plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas em canteiros, de abril a agosto de 1997.

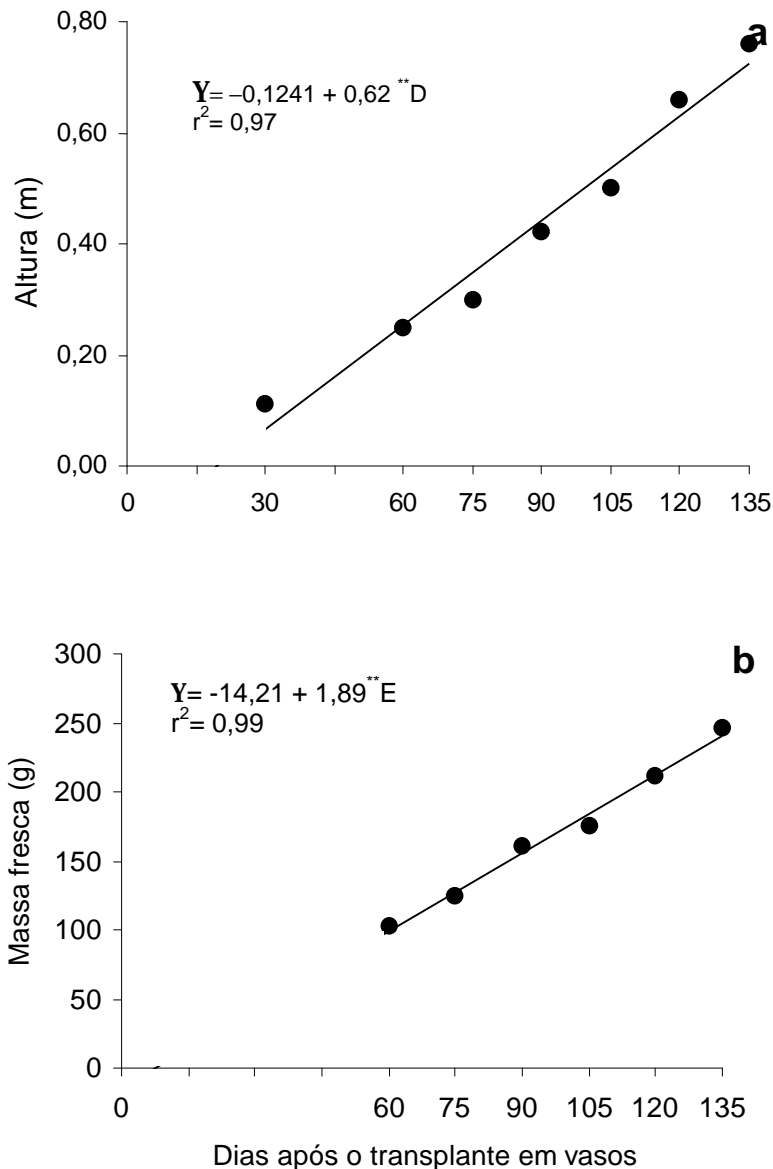


Figura 4 Estimativas da (a) altura e da (b) massa fresca da parte aérea das plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a pleno sol, de maio a outubro de 1999, em Viçosa, MG, em função dos dias (D) após o transplante em vasos de 10 L.

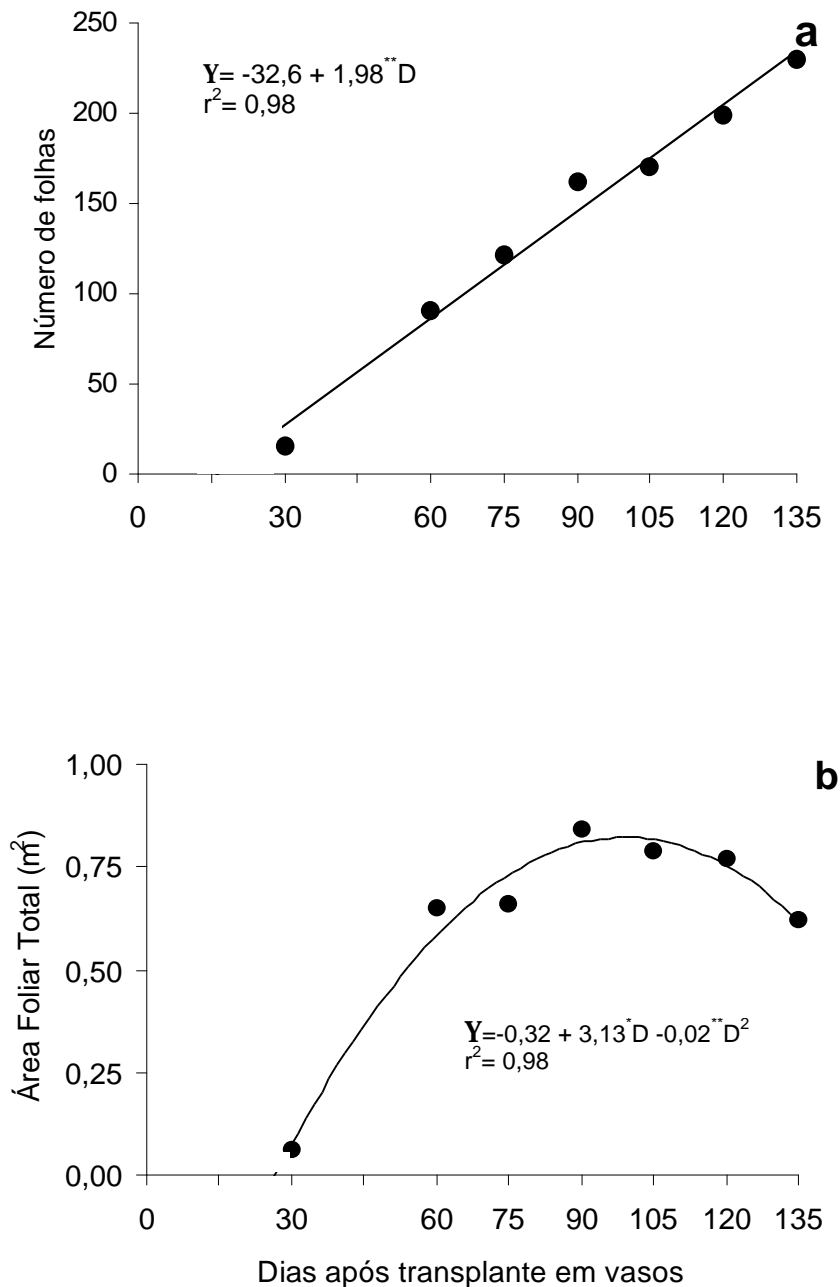


Figura 5. Estimativa do (a) número de folhas e da (b) área foliar total por planta das plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a pleno sol, de maio a outubro de 1999, em Viçosa, MG, em função dos dias (D) após transplante em vasos de 10 L.

A variável área foliar total por planta, Figura 5 (b), teve comportamento quadrático. A área foliar total por planta, estimada com base no número de folhas e na área das folhas maior e de dimensão média, teve maior crescimento até o 60º dia após o transplante em vasos, quando hastes e ramos laterais desenvolveram-se. A redução nos valores da variável área foliar total por planta, verificada no final do período de crescimento monitorado, Figura 3 (c) e 5 (b), ocorreu tanto devido à queda das folhas senescentes, quanto devido à redução nas dimensões das folhas, uma vez que esses valores foram estimados a partir do número de folhas e da área da folha maior e da folha de dimensões médias. Nessas plantas, as folhas maiores são as mais velhas, formadas antes da emissão das hastes ou caules e localizam-se na parte inferior das plantas. Assim, estas são as primeiras a senescer, e as novas folhas formadas após emissão das hastes são bem menores, Figura 3 (c). A área da folha maior, Figura 6 (a), e da folha com dimensões médias, Figura 6 (b), tiveram comportamento cúbico. Ambas foram maiores antes da emissão do caule ou haste principal.

As variáveis teor de açúcares solúveis totais, Figura 7 (a), de amido, Figura 7 (b), e de açúcares não redutores, Figura 8 (b), tiveram comportamento quadrático, enquanto a variável teor de açúcares redutores teve comportamento linear, Figura 8 (a). O teor máximo de açúcares solúveis totais ocorreu cerca de 116 dias após o transplante em vasos, quando os primeiros botões florais se desenvolveram, os quais provavelmente são os principais responsáveis pelo decréscimo observado em seguida. Segundo DICKSON (1991), a força do dreno é, provavelmente, o principal fator controlador da distribuição de fotoassimilados dentro da planta. No estado vegetativo as folhas em expansão são fortes drenos. O desenvolvimento dos botões florais, no início da fase reprodutiva, e o início da senescência foliar provavelmente alteraram a relação fonte-dreno, e os botões tornaram-se os drenos preferenciais. O maior teor de amido nas folhas expandidas do 2º e 3º nó, ocorreu, por sua vez, 105 dias após o transplante, quando as plantas já estavam na fase reprodutiva.

O teor de açúcares redutores nas folhas expandidas diminuiu com o tempo após o transplante em vasos, Figura 8 (a), enquanto o teor de açúcares não redutores, Figura 8 (b) aumentou até atingir seu ponto máximo. Esses

dados indicam que os açúcares redutores, como a glicose, foram convertidos em não redutores, as formas transportáveis de fotoassimilados.

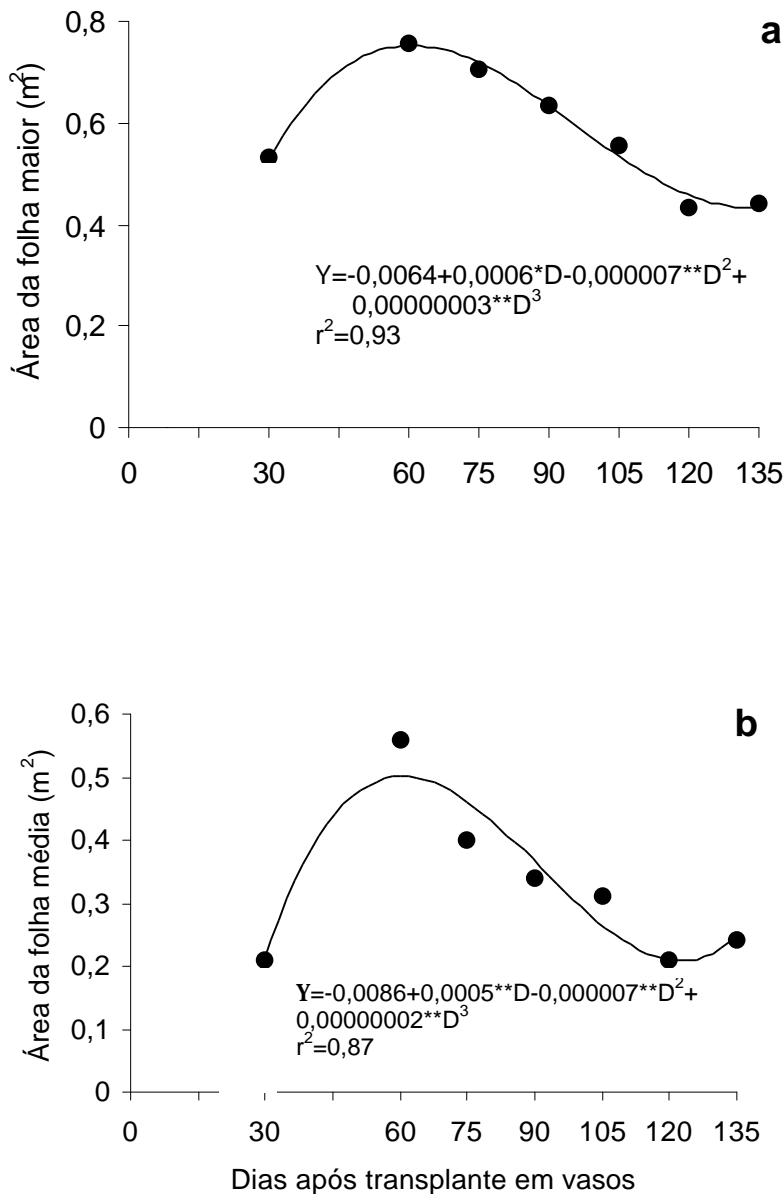


Figura 6. Estimativa da (a) área da folha maior e da (b) folha de dimensões médias das plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a pleno sol, em vasos, de maio a outubro de 1999, em Viçosa (MG), em função dos dias (D) após transplante em vasos de 10 L.

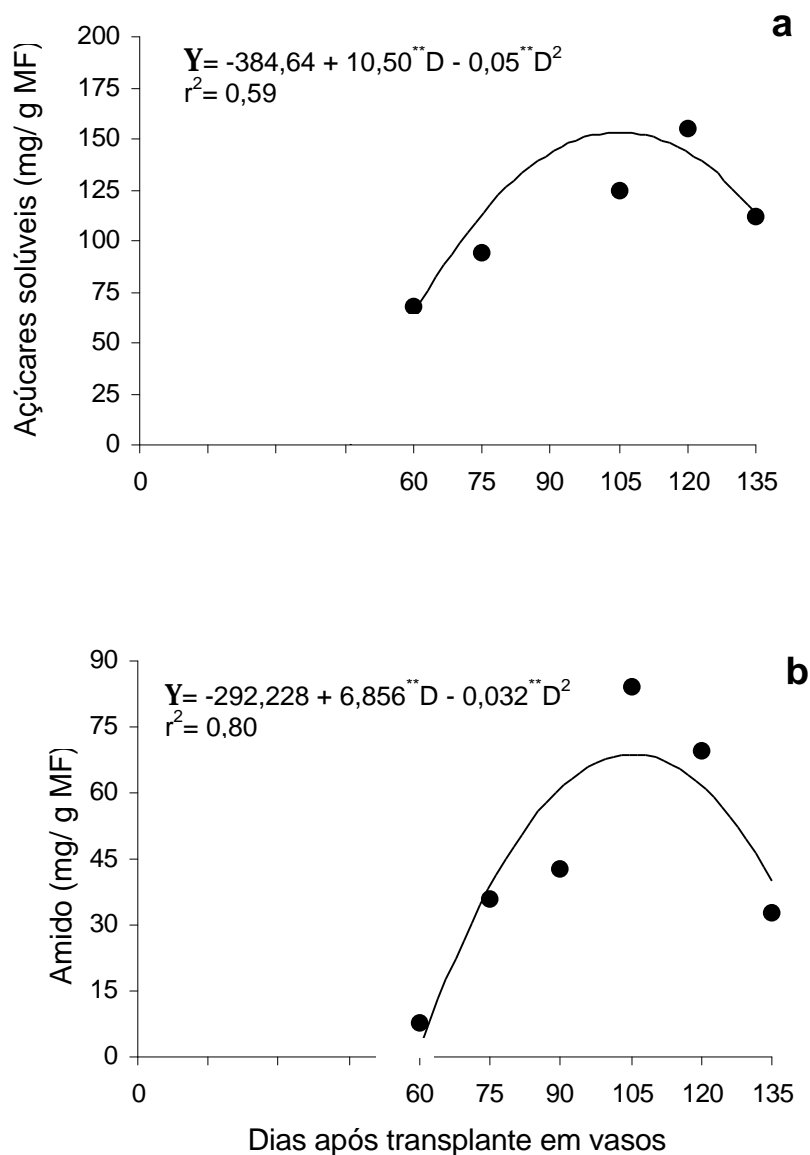


Figura 7. Estimativa do (a) teor de açúcares solúveis totais e de (b) amido, em miligrama por grama de matéria fresca (MF) nas plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a pleno sol, em Viçosa, MG, em função dos dias (D) após transplante em vasos de 10 L, de maio a outubro de 1999.

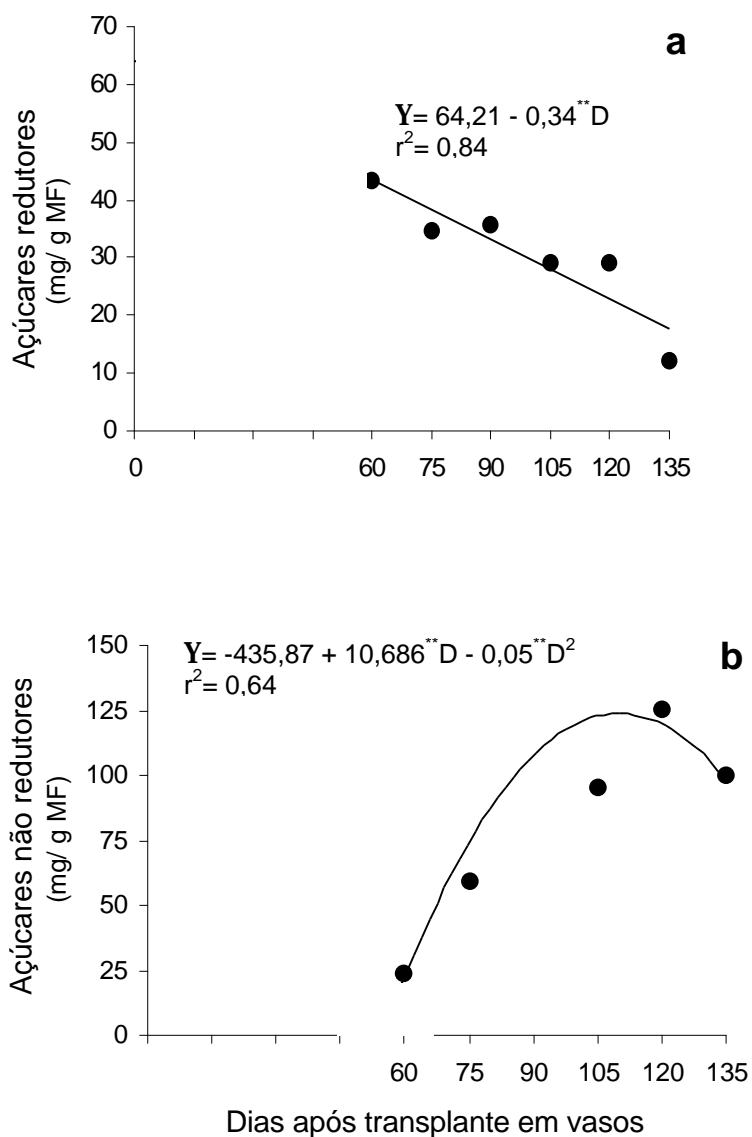


Figura 8. Estimativa do (a) teor de açúcares solúveis redutores e (b) não redutores, em miligrama por grama de matéria fresca (MF) nas plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a pleno sol, de maio a outubro de 1999, em Viçosa, MG, em função dos dias (D) após transplante em vasos de 10 L.

3.2 Anatomia foliar

Cortes transversais aos folíolos terminais de *T. parthenium*, Figura 9 (a, c), mostram a simetria dorsiventral, com epiderme uniestratificada, em ambas as faces, uma a duas camadas de parênquima paliçádico e quatro a cinco camadas de parênquima lacunoso formando o mesofilo. A espessura da lâmina foliar total e dos tecidos constituintes aumentou pouco durante o crescimento e desenvolvimento (Quadro 2). A epiderme superior ou adaxial é pouco mais espessa do que a inferior ou abaxial. O tecido que ocupa mais espaço é o parênquima lacunoso, preenchendo a maior parte do mesofilo (Quadro 2). A espessura total da lâmina foliar e dos seus tecidos constituintes aumentou com o tempo, em dias (Quadro 2).

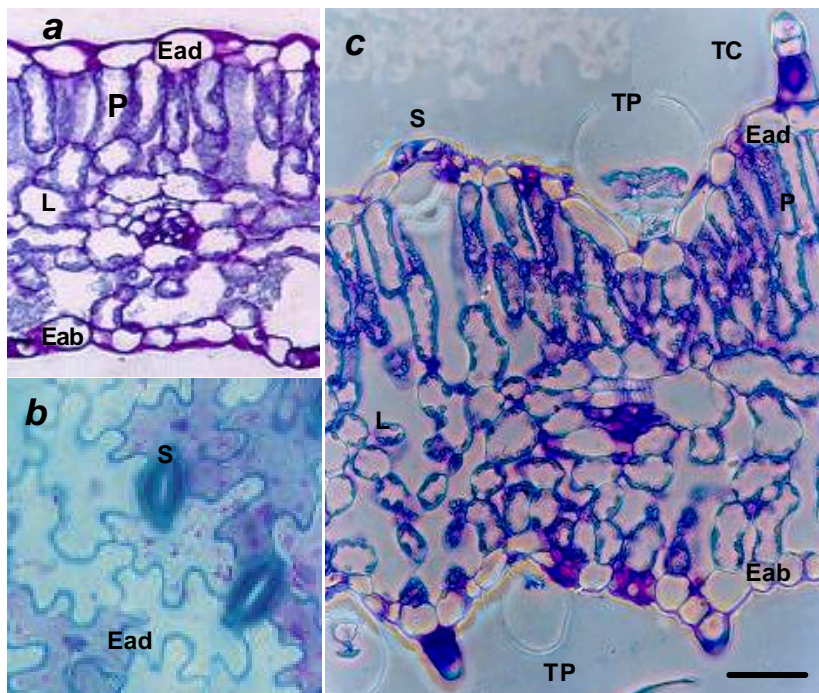


Figura 9. Fotomicrografia de região do folíolo terminal das folhas das plantas de *Tanacetum parthenium*, em corte transversal (a) e (c) e em paradérmico (b), crescidas a pleno sol, de maio a outubro de 1999, em Viçosa, MG, em vasos, mostrando epiderme abaxial (Eab), adaxial (Ead), células do parênquima lacunoso (L), paliçádico (P), estômatos (S), e tricomas peltados (TP) e capitados (TC); barra=50µm.

A epiderme, é constituída por células tabulares, em corte transversal, Figura 9 (a, c), mas com aspecto irregular, em corte paradérmico, Figura 9 (b). A dimensão das células epidérmicas da superfície adaxial é pouco maior do que nas células da face abaxial, Figura 9 (a, c), característica muito comum entre as angiospermas. Estômatos anomocíticos, Figura 9 (b), ocorrem em ambas as faces da epiderme. Eles ocorrem pouco acima do nível das células epidérmicas comuns, Figura 9 (c), característica também observada por SILVA (2000) em *Hyptis suaveolens* e *H. glomerata*. Estas duas espécies, citadas por SILVA (2000), à semelhança de *T. parthenium*, têm muitos tricomas revestindo a epiderme, em ambas as faces. Os tricomas, segundo BUVAT (1989) podem ser de dois tipos: "protetores", sem células secretoras, e "glandulares" com células secretoras.

Quadro 2. Médias e desvios padrão da espessura total da lâmina foliar (EST), das epiderme adaxial (ESED), e abaxial (ESEB), e dos parênquimas paliçádico (ESPP) e lacunoso (ESPL), em micromêtros (μm) das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função do tempo, em dias após transplante em vasos

Tempo (dias após transplante)	Espessura (μm)				
	EST	ESED	ESEB	ESPP	ESPL
60	1,61 \pm 0,06	0,167 \pm 0,012	0,163 \pm 0,021	0,543 \pm 0,023	0,863 \pm 0,012
75	1,83 \pm 0,06	0,157 \pm 0,012	0,157 \pm 0,015	0,647 \pm 0,131	0,887 \pm 0,075
90	1,96 \pm 0,11	0,163 \pm 0,015	0,150 \pm 0,02	0,607 \pm 0,072	1,117 \pm 0,122
105	2,05 \pm 0,07	0,170 \pm 0,017	0,160 \pm 0,017	0,647 \pm 0,075	1,207 \pm 0,075
120	2,15 \pm 0,05	0,167 \pm 0,012	0,157 \pm 0,021	0,813 \pm 0,108	1,173 \pm 0,093
135	2,23 \pm 0,09	0,163 \pm 0,006	0,147 \pm 0,012	0,870 \pm 0,035	1,203 \pm 0,006

Os tricomas secretores ou "glandulares" dessas plantas são peltados, Figuras 9 (c) e 10 (a, b), ou capitados, Figura 9 (c), predominando, no entanto, os peltados. Os tricomas peltados, com aspecto globoso em corte transversal, ocorrem em regiões epidérmicas onde há depressões, Figura 10 (a), característica também observada por ASCENSÃO et al. (1995), em *Leonotis*

leonorus, por CASTRO (1998), em *Leonorus sibiricus* e por SILVA (2000), em *Hyptis glomerata* e *H. suaveolens*. O partenólídeo, o princípio ativo característico das plantas de *T. parthenium*, acumula-se nessas estruturas, segundo BROWN et al. (1997), nas superfícies aéreas da planta. Nas espécies do gênero *Artemísia*, também da família Asteraceae, as lactonas sesquiterpênicas, segundo DUKE e PAUL (1993), também localizam-se em tricomas glandulares desse tipo, no espaço subcuticular das células da cabeça do tricoma. Segundo FAHN (1988), tricomas glandulares ocorrem em muitas famílias, como Labiatae, Asteraceae, Geraniaceae, Solanaceae e Cannabiaceae. Nas Asteraceae são, em geral, multicelulares e bisseriados, podendo ser pedunculados ou sésseis.

Segundo ASCENSÃO et al. (1995), esses tricomas são estruturados de modo a se romperem mais facilmente com a ação de fatores externos, como ventos, altas temperaturas, baixa umidade relativa e ações por parte de animais, liberando seu conteúdo ao meio. Em geral, eles produzem além de substâncias lipofílicas, polissacarídeos e até mesmo proteínas (FAHN, 1988), compostos com processos de biossíntese e estruturas de acúmulo de alto custo energético. A localização desses tricomas, nas plantas de *T. parthenium*, em depressões da epiderme, Figura 9 (c), confere certa proteção a eles, impedindo maiores perdas dos seus produtos.

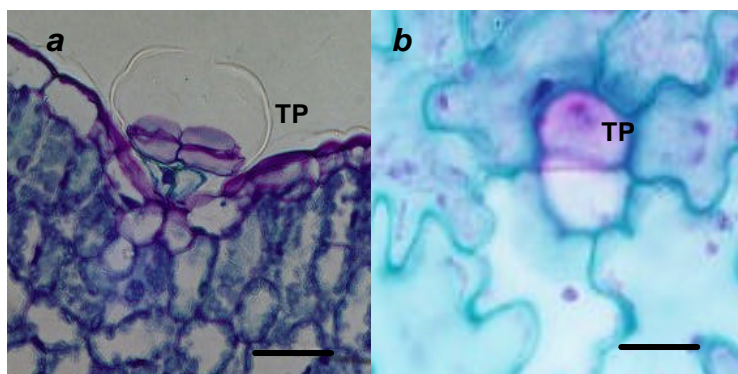


Figura 10. Fotomicrografia do tricoma glandular peltado (TP) das plantas de *Tanacetum parthenium*, crescidas a pleno sol, de maio a outubro de 1999, em vasos, mostrando aspecto geral em (a) corte transversal; barra = 25µm e em (b) corte paradérmico; barra = 25µm.

Os tricomas "protetores" ou tectores, abundantes em *T. parthenium*, Figura 11, são multicelulares, constituídos por uma fileira de cerca de quatro células, de aspecto citológico semelhante ao das células epidérmicas comuns. Eles ocorrem como projeções a partir da epiderme, Figura 11, recobrendo a face adaxial e abaxial, particularmente regiões próximas às nervuras, Figura 11 (b) e aos estômatos. Segundo BUVAT (1989) a presença desses tricomas está relacionada a proteção das regiões meristemáticas ou proteção contra a aridez do ambiente externo, propiciando um ambiente relativamente constante. As funções atribuídas aos tricomas têm sido discutidas por vários autores. A maioria acredita que a presença de tricomas em folhas e caules jovens relaciona-se mais com adaptação a condições áridas, por interferirem no processo da transpiração (FAHN, 1986).

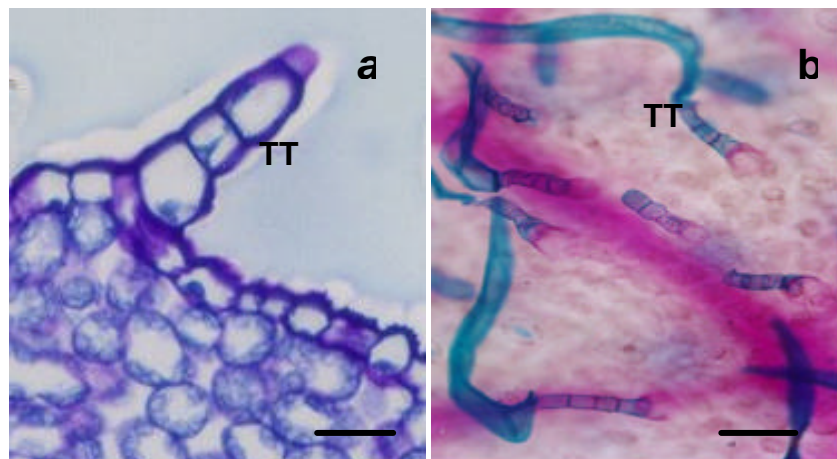


Figura 11. Fotomicrografia de tricoma tector (TT) das plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas em pleno sol, de maio a outubro de 1999, em vasos, mostrando o aspecto geral em (a) corte transversal; barra = 25µm e (b) inteiro, numa lâmina de diafanização; barra=25µm.

3.3. Teor de partenólídeo

O partenólídeo foi detectado no cromatograma com tempo de retenção de 7,5 minutos (Figura 12). A porcentagem de partenólídeo nos tecidos de *T. parthenium* não diferiu significativamente entre as épocas de colheita, apesar de terem sido verificadas médias pouco maiores nos estádios iniciais do desenvolvimento das plantas, Figura 13.

O teor de partenólídeo por planta individual variou em função do tempo, em dias, após o transplante em vasos: aumentou de 307 (aos 60 dias) a 514 mg por planta (aos 135 dias após transplante em vasos), tendo aos 120 dias após transplante cerca de 1042 mg/planta, Figura 14.

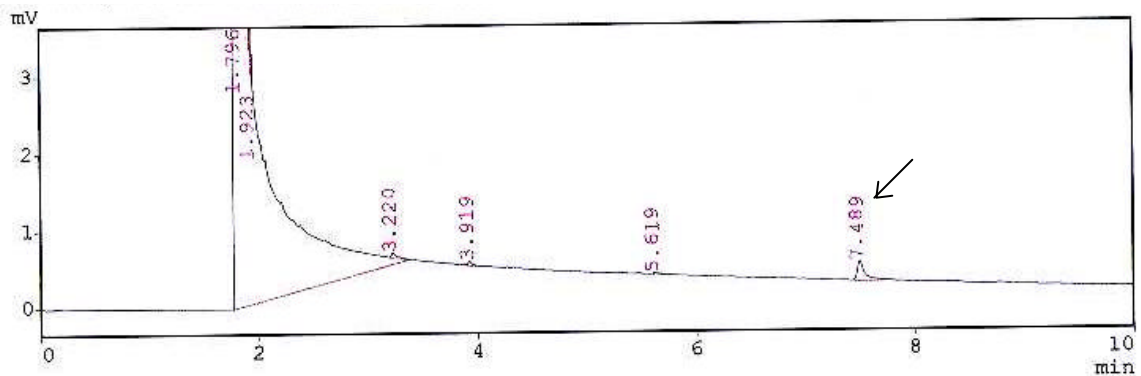


Figura 12. Cromatograma do extrato clorofórmico da parte aérea das plantas de *Tanacetum parthenium*, crescidas de maio a outubro de 1999, em vasos, a pleno sol, em Viçosa, MG. (Coluna com fase estacionária SBP-5).

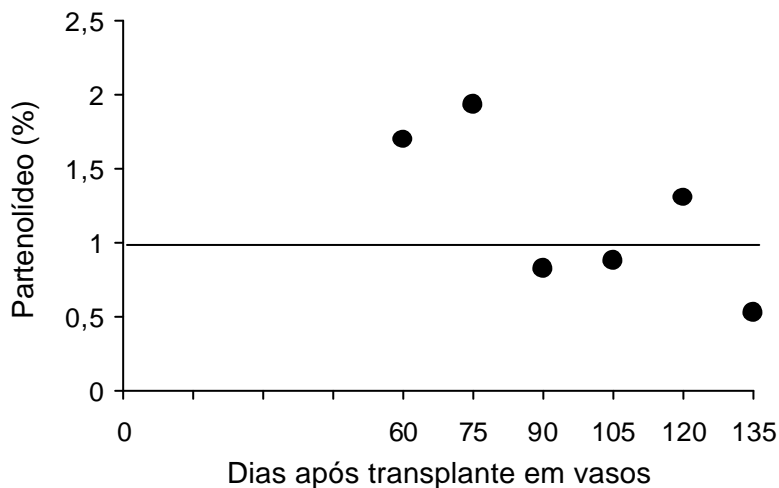


Figura 13. Estimativa da porcentagem de partenólídeo na parte aérea das plantas de *Tanacetum parthenium*, crescidas a pleno sol, em vasos, de maio a outubro de 1999, em Viçosa, MG. Os pontos representam as médias das observações reais.

Segundo HENDRIKS et al. (1997) o teor de partenólídeo por planta de *T. parthenium* aumenta durante o desenvolvimento das plantas. Esse comportamento decorre primeiro do partenólídeo não ocorrer apenas nas folhas, mas também nas inflorescências, apesar de ocorrer em menor concentração, e segundo porque com o desenvolvimento das plantas aumenta também o número de folhas por planta. Segundo CASTRO (1998), e SILVA (2000), a menor relação superfície/ volume dos caules e a presença de maior número de tecidos lignificados nesse órgão provavelmente indicam que a presença protetora de terpenóides seja menos necessária, uma vez que os herbívoros têm geralmente, preferência por tecidos mais tenros.

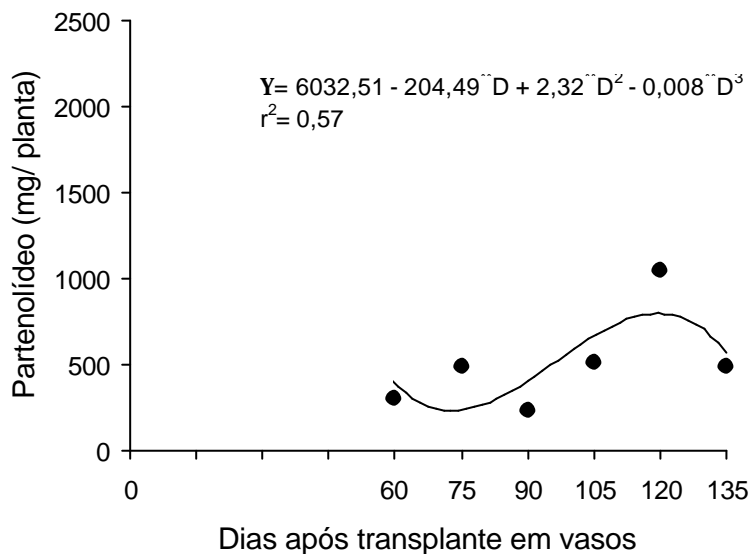


Figura 14. Estimativa do teor de partenólídeo, em relação a massa seca da parte aérea, das plantas de *Tanacetum parthenium*, crescidas a pleno sol, em vasos de maio a outubro de 1999, em Viçosa, MG.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Plantas de *Tanacetum parthenium*, obtidas de sementes, crescidas em vasos de 10 L, a pleno sol tiveram aumento linear na altura, no número de folhas e no acúmulo de massa fresca na parte aérea das plantas em função do tempo após o transplante em vasos, de maio a outubro de 1999. A área da maior folha, da folha com dimensões médias e a área foliar total por planta diminuiu após a formação das hastes ou ramos. O teor de açúcares solúveis e de amido nas folhas expandidas do terço superior das plantas foi maior após emissão dos primeiros botões florais

Tricomas glandulares do tipo peltado, que produzem e acumulam o partenólídeo, o princípio ativo mais importante nessas plantas, juntamente com tricomas glandulares capitados e tricomas não glandulares, ou tectores, revestem ambas as faces da epiderme. Nas epidermes ocorrem ainda estômatos anomocíticos, que localizam-se em depressões. O mesofilo é constituído por uma camada de parênquima paliçádico, junto a face adaxial, e 4 a 5 camadas de parênquima lacunoso.

O teor de partenólídeo por planta aumentou com o tempo, sendo maior aos 120 dias após transplante em vasos. No entanto, a porcentagem de partenólídeo foi maior nos estádios iniciais do desenvolvimento, quando a massa seca constituía-se predominantemente de folhas.

CAPÍTULO 2

EFEITO DA DISPONIBILIDADE DE ÁGUA NO SOLO SOBRE O CRESCIMENTO, ANATOMIA FOLIAR E TEOR DE PROLINA, DE CLOROFILA E DE PARTENOLÍDEO EM ARTEMISIA

1. INTRODUÇÃO

As condições ambientais alteram-se de modo regular e previsível em ciclos diários e sazonais. Assim, raramente é ótimo ao crescimento das plantas, tanto nas regiões naturais quanto nas agrícolas (CHAPIN III, 1991). Modificações altamente imprevisíveis são impostas nesse padrão regular, por causa das mudanças no clima e na disponibilidade de nutrientes. Como as plantas estão enraizadas no solo, a resposta a extremos de temperatura, baixa disponibilidade de água e de nutrientes minerais, e luz insuficiente ou excessiva não inclui o escape físico, apenas plasticidade fenotípica (SMIRNOFF, 1995).

A água rapidamente está se tornando recurso escasso em muitas áreas do mundo. Estudos recentes têm indicado que plantas de qualidade podem ser obtidas por meio de sistemas de irrigação reduzida (MORVANT et al., 1998). O crescimento das plantas pode ser limitado pela deficiência hídrica, mas geralmente não é afetado negativamente por irrigação excessiva, desde que o solo seja bem drenado (CHARTZOULAKIS e DROSOS, 1997; SCHUCH et al., 1998).

O solo representa o reservatório de água das plantas. O balanço hídrico do solo é determinado pelos elementos de ganho, como a precipitação, e pelos

elementos de perda de água, como a evaporação (KUDREV, 1994). A disponibilidade de água no solo depende das propriedades da planta, propriedades do solo, e das condições micrometeorológicas. A água disponível às plantas é aquela presente em condições de ser prontamente absorvida pelas raízes, ou seja é o teor de água retido pelo solo entre a capacidade de campo e o ponto de murcha permanente (WINTER, 1988). Capacidade de campo, por sua vez, é considerada a máxima quantidade de água que um solo é capaz de reter em condições normais de campo. Enquanto que o ponto de murcha permanente representa o teor de umidade do solo, no qual a planta sofre murcha, não recuperando a turgescência das folhas, quando novamente colocada em ambiente úmido (FONTES e FONTES, 1992).

Entre os estresses ambientais, a deficiência hídrica destaca-se como fator adverso ao crescimento e produção vegetal. Quando existe carência de água nas plantas, os estômatos tendem a se fechar. A perda de água pode reduzir o potencial hídrico das plantas, causando redução na turgescência, condutância estomática, fotossíntese e, finalmente, menores crescimento e produtividade. O fechamento estomático causa redução não apenas na perda de água, mas também na entrada de dióxido de carbono, diminuindo, assim, a taxa de fotossíntese. O acúmulo de massa seca, como resultado da assimilação de carbono, é maior nos tecidos túrgidos do que nos tecidos deficientes em água. Assim, insuficiente suprimento de água limita, também, a produtividade das plantas (KUMAR e SINGH, 1998).

A deficiência de umidade altera vários processos bioquímicos e fisiológicos, e induz respostas metabólicas e fisiológicas como o fechamento estomático, declínio na taxa de crescimento, acúmulo de solutos, de substâncias antioxidantes, e expressão de genes específicos de estresse (STEPONKUS, 1990; SINGH-SANGWAN et al., 1994). A prolina é a molécula mais estudada em plantas submetidas a estresses abióticos (HEUER, 1994; MADAN et al., 1995). Ela atua no ajuste osmótico das plantas por várias razões, como sua característica altamente hidrofílica, que permite atuar, particularmente, como soluto compatível. Estes solutos são compostos que podem se acumular em altas concentrações no citoplasma celular, sem interferirem com a estrutura e ou metabolismo celular. Outras funções do acúmulo de prolina livre têm sido propostas, incluindo desintoxicação, e

regulação do estado redox da célula (VERSLUES e SHARP, 1999). O ajuste osmótico é importante mecanismo da tolerância à seca, porque capacita a planta a (1) continuar com a expansão celular, (2) ajustes estomáticos e fotossintéticos e (3) otimizar o crescimento (HEUER, 1994; KUMAR e SINGH, 1998).

O efeito inibitório da deficiência hídrica na fotossíntese é conhecido desde o século passado. Em princípio, a inibição da atividade dos cloroplastos pode estar relacionada a alterações nos pigmentos plastídicos, como a clorofila. Algumas mudanças representam injúria às plantas, no entanto outras ocorrem enquanto a planta ajusta-se fisiologicamente ao estado de menor disponibilidade de água. Crescimento lento e reduzido é característico de plantas adaptadas a ambientes deficientes em algum recurso ambiental (WINTER, 1988; CHAPIN III, 1991; NAUTIYAL et al., 1996; SHINOZAKI et al., 1999). Isso reflete a baixa capacidade de obter os recursos necessários. Em solos com deficiência hídrica, a possibilidade de suprimento da planta com nutrientes é baixa ou nula, devido à inibição ou interrupção do crescimento das raízes (KUDREV, 1994)

Tem sido relatado, que vários genes respondem à seca em nível transcricional. Os produtos desses genes atuam na tolerância e resposta ao estresse. Provavelmente a desidratação dispara a produção de ácido abscísico (AAB), substância reguladora do crescimento, o qual por sua vez induz vários genes. O AAB tem importante papel na resposta e tolerância contra desidratação. Genes induzidos durante situação estressante funcionam não só na proteção da célula contra desidratação, pela produção de importantes proteínas metabólicas, mas também na regulação de genes de transdução de sinais na resposta à seca. Assim os produtos desses genes podem ser classificados em dois grupos. O primeiro inclui fatores protéicos que provavelmente atuam na tolerância ao estresse. O segundo grupo contém fatores envolvidos na regulação posterior da transdução de sinais e expressão gênica, que provavelmente atua na resposta ao estresse (SHINOZAKI et al., 1999).

As respostas da expansão dos tecidos e divisão celular a estresses ambientais têm sido bem documentadas em órgãos que crescem em uma única direção e em estado de equilíbrio dinâmico, tais como raízes ou folhas de

monocotiledôneas durante o alongamento. As conseqüências desses estresses, no entanto, são mais complexas em folhas de dicotiledôneas, que crescem em duas dimensões e nas quais nenhum equilíbrio dinâmico pode ser definido (GRANIER e TARDIEU, 1999).

Não apenas as plantas são diretamente afetadas pela deficiência hídrica, mas potencialmente, também, os organismos que interagem com elas, particularmente os parasitas. Tem sido proposto que plantas sujeitas a deficiência hídrica são mais vulneráveis a seus parasitas (ENGLISH-LOEB et al., 1997). Desse modo, é provável que substâncias relacionadas com a função de defesa química tenham alteração. Nesse sentido, as plantas medicinais, as quais têm como princípios ativos metabólitos secundários comumente relacionados com defesa, merecem destaque. No entanto sabe-se ainda muito pouco sobre o efeito de condições ambientes desfavoráveis sobre esses compostos e essas plantas.

SINGH-SANGWAN et al. (1994) verificaram alguns distúrbios fisiológicos e metabólicos na biogênese de óleos essenciais em plantas de *Cymbopogon nardus* e *C. pendulus* submetidas a deficiência hídrica por 45 ou 90 dias. Enquanto o teor e composição do óleo essencial de *C. pendulus* não teve alteração, em *C. nardus* houve alteração na composição, com redução de aproximadamente 20% tanto com 45, quanto com 90 dias. Esse efeito, segundo os mesmos autores deveu-se em parte a alterações na atividade catalítica das enzimas envolvidas na biogênese. Além disso, tem sido sugerido que plantas estressadas têm maior densidade de glândulas produtoras de óleo, devido a redução na área foliar, o que resulta na alta quantidade de óleo acumulada (SINGH-SANGWAN et al., 1994).

Detalhes significativos das respostas fisiológicas e metabólicas das culturas agrícolas a ambientes secos são conhecidos, mas sobre o comportamento das plantas medicinais e aromáticas com limitada disponibilidade de umidade pouco se sabe (SINGH-SANGWAN et al., 1994; LETCHAMO e GOSSELIN, 1996). Assim esse trabalho teve por finalidade verificar efeitos de quatro níveis de água no solo sobre o crescimento, aspectos fisiológicos e anatômicos, e sobre o teor de partenólídeo de plantas de *Tanacetum parthenium* em quatro épocas de colheita, durante o desenvolvimento dessas plantas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Plantas

Plantas de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz.-Bip foram obtidas de sementes cedidas pelo Grupo Entre Folhas (Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG). A semeadura foi realizada em bandejas de isopor, preenchidas com terra/areia no dia 18 de março de 1999. Após 35 dias, as plantas foram transplantadas em vasos, previamente pesados, de cinco litros, preenchidos com substrato constituído por terra: areia: esterco bovino curtido, na proporção de 3:2:1. O experimento, propriamente dito, foi iniciado 52 dias após semeadura, ou seja 17 dias após o transplante em vasos, quando as plantas tinham, em média, 0,085 m de altura e de 15 a 20 folhas. Foram coletadas amostras do substrato dos vasos na área experimental, as quais foram analisadas no Laboratório de Análise de Solos da UFV (Quadro 1).

O substrato dos vasos, até aquela data, foi irrigado diariamente, por meio de regador de crivos finos, até o ponto em que devido a drenagem, começou a sair a água em excesso dos vasos. Desse modo manteve-se os vasos umedecidos na sua capacidade ("capacidade de campo") até o dia em que iniciaram-se os tratamentos.

Quadro 1. Resultados da análise química do substrato utilizado no experimento

pH	P	K	Na	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC _t	CTC _T	V
H ₂ O	----mg/dm ³ ----			-----cmol/ dm ³ -----				-----cmol/ dm ³ -----		---%--	
5,8	268	126	-	3,1	2,6	0	1,7	6,02	6,02	7,72	78,0

P e K: Extrator Mehlich .

H+Al: Extrator acetato de cálcio 0,5 mol/L, pH 7,0

Al, Ca e Mg: Extrator KCl - 1 mol/L.

SB = Soma de bases trocáveis

CTC_t = Capacidade de troca catiônica efetiva.

CTC_T = Capacidade de troca catiônica em pH 7,0

V = índice de saturação de bases.

2.2. Tratamentos

Os tratamentos constituíram-se da combinação de quatro níveis de água no substrato dos vasos e de quatro épocas de amostragem (ou de colheita). Os níveis hídricos utilizados foram (1) vasos mantidos na capacidade de campo; (2) vasos com 90% da capacidade de campo, (3) vasos com 70% da capacidade de campo e (4) vasos com 50% da capacidade de campo.

A capacidade de campo (31% de umidade) foi determinada previamente, por meio da curva de retenção de umidade (Método Tuboll), a partir do substrato seco, peneirado e homogeneizado no Laboratório de Física do Solo, da Universidade Federal de Viçosa, segundo técnicas de rotina. Preencheu-se um tubo cilíndrico com uma amostra desse substrato, em seguida adicionou-se, aos poucos, volume de água necessário (95 mL) para umedecer a metade superior do substrato. Vedou-se o tubo com plástico e incubou-se por 48 horas. Retirou-se, então, alíquotas dos tubos, a cada 2 cm, colocando cada uma em vasilhame de alumínio, de massa conhecida. Esses vasilhames com substrato foram novamente pesados 24 horas depois e estimou-se, por diferença, a quantidade de água presente em cada uma. Esse valor foi, então, convertido em porcentagem de umidade e a média da porcentagem de umidade das alíquotas foi considerada como sendo a necessária à capacidade de campo do substrato.

O estabelecimento e controle de cada nível hídrico foi feito, em cada bloco de vasos, por meio do monitoramento diário da massa de uma amostra, constituída por quatro vasos, incluindo seu substrato e a planta, de cada nível hídrico. Previamente determinou-se a massa referência, ou seja a massa que cada vaso precisava ter, para os vasos de cada nível hídrico. Isso foi feito a partir da massa de cada vaso vazio, da massa do vaso com substrato seco e na capacidade de campo, e do grau de umidade do substrato na capacidade de campo. A cada dia, após a pesagem dos vasos, comparava-se esse massa com a massa referência, calculava-se a diferença e acertava-se a massa do vaso acrescentando o volume de água correspondente. Uma amostra de quatro vasos mantidos na capacidade de campo durante todo o tempo do experimento foi utilizada, para aferir as massas dos vasos, a cada quatro semanas, alterados devido ao incremento propiciado pelo crescimento das plantas.

As épocas de amostragem ou colheita foram determinadas a partir dos resultados de HENDRIKS et al. (1997) e de FIGUEIREDO (1998), com plantas de *Tanacetum parthenium* cultivadas em casa de vegetação. Aos 52 dias após sementeira, no dia 10 de maio de 1999, os tratamentos foram iniciados. Esse dia foi considerado, portanto como dia ou época zero. As colheitas da parte aérea das plantas foram iniciadas 30 dias após essa data, sendo realizadas com intervalos regulares de 30 dias, ou seja aos 30, 60, 90 e 120 dias. Em cada época de colheita, foram colhidas 16 plantas por parcela, perfazendo um total de 64 plantas por época. As colheitas foram feitas manualmente, cortando-se o caule rente ao solo com tesoura de poda, sempre no horário compreendido entre 7:00 e 09:30 horas. As plantas, logo que colhidas, foram colocadas separadamente em sacos de papel tipo Kraft, previamente identificados. As amostras foliares foram, então, retiradas de cada planta da unidade experimental, e submetidas a análises anatômicas e a extração e determinação de prolina. Imediatamente depois, as plantas foram pesadas e levadas à sala de secagem do Grupo Entre - Folhas, onde desidrataram à temperatura ambiente e umidade mantida em torno de 50%, por meio de desumidificador.

Nas quatro épocas de colheita avaliou-se o crescimento por meio de medidas da altura da planta, número de folhas, área foliar, massa da massa fresca e seca da parte aérea, além de registros relativos ao desenvolvimento da planta. Aquelas determinações que não requeriam colheita da parte aérea da planta ou coleta de amostra foram feitas, também, no dia em que iniciou-se o controle hídrico do substrato dos vasos, dia este denominado de dia ou época zero.

2.3. Instalação do Experimento e Análise Estatística

O experimento foi conduzido a pleno sol, em área do Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa, no período de maio a setembro de 1999. No Quadro 2 constam as condições ambientais nesse período.

Quadro 2. Médias mensais dos dados meteorológicos de Viçosa, MG, durante o período experimental (março a setembro de 1999)

Dados Meteorológicos	Meses						
	Março	Abril	Mai	Junho	Julho	Agosto	Setembro
Temp. média do ar (°C)	22,10	20,58	17,20	16,56	17,02	16,10	19,31
Temp. máxima do ar (°C)	28,52	27,76	25,35	24,54	24,38	25,91	27,06
Temp. mínima do ar (°C)	17,86	16,14	11,67	11,53	12,41	8,95	12,79
Umidade relativa média (%)	84,26	82,26	80,23	82,78	81,79	71,84	67,04
Velocidade média do vento (m/s)	1,46	0,98	1,15	0,89	0,96	0,91	1,73
Precipitação total (mm)	273,7	36,5	2,0	13,2	4,2	0,0	50,7
Evaporação média (mm)	2,55	2,48	3,09	2,70	2,62	4,02	5,19
Insolação média (h)	6,72	7,05	8,12	5,22	5,65	7,9	6,7

Fonte: Distrito Meteorológico de Viçosa (MG)

O experimento foi instalado segundo esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os níveis de água no substrato dos vasos (100%, 90%, 70% e 50% da capacidade de campo) e nas subparcelas as épocas de colheita (30, 60, 90 e 120 dias após início do controle hídrico do substrato dos vasos), no delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições. A unidade experimental constituiu-se de quatro vasos de cinco litros, com uma planta por vaso. Cada subparcela foi constituída por 16 plantas, cada parcela contou com 64 plantas, perfazendo total de 256 plantas no experimento. Os dados obtidos foram analisados utilizando-se a técnica de superfície de resposta. Os modelos foram escolhidos baseando-se na significância dos coeficientes de regressão, por meio do teste de t, a 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação e no fenômeno em estudo.

2.4. Crescimento

Determinou-se, em cada época, por meio de régua, em centímetros, a altura das plantas, comprimento e largura da folha maior e da folha de dimensões médias. Além disso, contou-se o número de folhas em cada planta, sendo consideradas desde as folhas em início de expansão, com cerca de 3,0 cm de comprimento, até as em início de senescência; e determinou-se a área foliar e a massa fresca e seca da parte aérea.

Na determinação da área foliar foi utilizado procedimento similar ao adotado por FIGUEIREDO (1998), em plantas de *T. parthenium*. Determinou-se o comprimento e maior largura das lâminas foliares maior e de dimensão média, por meio de régua milimetrada, e a área destas mesmas lâminas por meio do medidor de área foliar portátil Licor, modelo 3000. Esse mesmo procedimento foi repetido por mais três vezes com plantas em outros estádios de desenvolvimento. Esses dados foram, então, submetidos a análise de regressão múltipla visando estimar a equação que mais se ajustava aos dados: $Y = 4,46065 + 1,15393C - 0,0241692C^2 - 5,03714L + 0,701271L^2 + 0,192815CL$, cujo coeficiente de determinação foi $r^2 = 0,9169$. Posteriormente, em cada época de colheita, foi possível estimar a área das folhas maior e de dimensão média sem retirá-las das plantas, procedendo-se apenas medidas de comprimento (C) e largura (L) máximas dessas lâminas foliares, por meio da equação obtida anteriormente. A área foliar total de cada planta foi, em seguida, estimada pelo produto da área foliar média de cada planta pelo número de folhas.

2.5 Determinações Bioquímicas e Fisiológicas

Estimativa do Teor de Clorofila Total — O teor de clorofila total foi estimado, em cada época de colheita e no dia zero, em folhas expandidas da metade superior das plantas intactas, por meio do medidor de clorofila Minolta SPAD - 502, que possibilita medição não destrutiva (HOEL e SOLHAUG, 1998). Esse instrumento mede a transmissão de luz vermelha em 650 nm, comprimento de onda em que a clorofila absorve luz, e transmissão de luz infravermelha em 940 nm, comprimento no qual nenhuma absorção ocorre. Com base nesses dois valores de transmissão, o aparelho calcula o valor

SPAD ("soil plant analysis development"), o qual é correlacionado com o teor de clorofila total (HOEL e SOLHAUG, 1998).

Extração e Determinação de Prolina — Amostras foliares coletadas em cada época de colheita foram congeladas com nitrogênio líquido, acondicionadas em sacos de polipropileno e armazenadas em "freezer", a - 40 °C até sua utilização na extração de prolina. A extração de prolina foi realizada a partir de 300 mg de amostra foliar homogeneizada em 10 mL de ácido sulfosalicílico 3% por cerca de 2 minutos. E a estimativa do teor de prolina foi feita segundo método colorimétrico de BATES et al. (1973).

2.6. Extração e Determinação do Partenólídeo

As plantas coletadas em cada época foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e levadas à sala de secagem do Grupo Entre Folhas, onde permaneceram espalhadas em bandejas, a temperatura ambiente e umidade controlada em 50%, por meio de desumidificador. Após cerca de vinte dias determinou-se, em balança analítica, a massa dessas plantas, que foi denominada de massa seca da parte aérea. Posteriormente, as plantas foram embaladas em sacos de polipropileno e armazenadas em "freezer" a - 40 °C, com o fim de preservar o princípio ativo de possíveis contaminações fúngicas, até sua utilização na extração, aproximadamente cinco meses depois.

A extração do partenólídeo, feita a partir da parte aérea (folhas, botões florais e inflorescências, sem ramos), desidratada à temperatura ambiente, foi realizada de acordo com método descrito por BROWN et al. (1997; 1999), com adaptações. Hastes ou ramos mais espessos das plantas foram removidos, a fim de facilitar a moagem, e folhas e inflorescências foram moídas em moinho mecânico e utilizadas na extração de partenólídeo. Amostras de 200 mg da parte aérea das plantas foram homogeneizadas em 16 mL de clorofórmio e em seguida, submetidas a banho maria com ultrassom por 15 minutos. Posteriormente, esse extrato foi filtrado em funil de vidro com papel filtro Whatmann nº 1. O filtrado foi, então, levado ao evaporador rotativo a 38 °C, visando eliminação completa do solvente. Após pesagem do resíduo sólido, este foi ressuspensionado em clorofórmio e acondicionado em frascos com tampa rosqueável, onde foi deixado por cerca de 12 a 15 horas, à temperatura

ambiente, até completa evaporação do solvente. As condições de determinação do teor de partenólídeo em cada amostra foram similares às descritas por HENDRIKS et al. (1997).

Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa, utilizando-se aparelho Shimadzu, modelo GC - 17A, equipado com detector de ionização de chama, acoplado a registrador e integrador C-R6A Cromatopac. A coluna utilizada foi a capilar SBP-5 (Supelco), com 30 cm de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno, e filme com espessura de 0,25 μm . O gás carreador foi o nitrogênio. As temperaturas utilizadas no injetor (270 °C) e no detector (300 °C) foram definidas durante os testes preliminares. A temperatura da coluna durante a extração aumentou de 220 a 250 °C, com isoterma de dez minutos em 250 °C.

As amostras do extrato foram precisamente pesadas (cerca de 10 mg) e diluídas em 10 mL de clorofórmio, sendo injetado 1 μL do extrato no cromatógrafo. Essas alíquotas (1 μL) do extrato total foram analisadas para a quantificação do teor de partenólídeo, por referência com curva padrão. Esta foi construída utilizando-se dados de injeções de 50 a 250 ppm do padrão de partenólídeo, dissolvido em clorofórmio.

O teor de partenólídeo nas amostras foi expresso de duas formas: (1) teor de partenólídeo por planta individual, em relação a massa seca da parte aérea (em miligrama) e (2) teor de partenólídeo em 100 gramas de massa seca (porcentagem).

2.7. Estudo Anatômico

Durante as colheitas da parte aérea das plantas retirou-se seções foliares, com aproximadamente 5 mm, de cada planta, para a montagem de lâminas permanentes com cortes transversais e seções foliares com cerca de 1 cm^2 destinadas a diafanização.

As seções foliares menores foram feitas, procurando-se evitar a região das nervuras, a partir das folhas expandidas do segundo ou terceiro par a partir do ápice. Imediatamente após a seção das folhas, as amostras foram fixadas em solução de formol - ácido acético - etanol aquoso 50% v/v, (FAA) 50% v/v na proporção 1:1:9 v/v, submetidas à vácuo a fim de facilitar a infiltração do fixador (JOHANSEN, 1940). Após 24 horas, a solução de FAA foi retirada, as

amostras foram lavadas e iniciou-se, no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, a etapa de desidratação etílica progressiva a partir da solução aquosa de etanol 70% v/v. Na etapa seguinte, as amostras foram submetidas à inclusão em historresina (Technovit 100, da Khulzer). As seções foliares foram, então, colocadas primeiro numa mistura de etanol 95% v/v e resina (solução de infiltração Technovit 100, da Khulzer), onde permaneceu por quatro horas. Em seguida foram colocadas em solução de infiltração pura por 24 horas, e finalmente em solução de inclusão (15 mL da solução de infiltração e 1 mL do endurecedor, Technovit 100, da Khulzer). Posteriormente essas amostras foram emblocadas em moldes plásticos e colocadas em estufa a 50 °C até ocorrer a polimerização da mistura. Nos blocos, assim obtidos, foram feitos cortes transversais de 7 µm de espessura por meio de micrótopo rotativo (LEICA, 2045, da Multicult), os quais foram distendidos em lâminas de vidro. Em seguida, os cortes, foram coloridos com azul de toluidina, e montados entre lâmina e lamínula com bálsamo do Canadá (BERLYN e MIKSCHE, 1976).

Nessas lâminas foram feitas medições da espessura da lâmina foliar, das epidermes, do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso e das células epidérmicas, com o auxílio de ocular de tambor micrométrico em dez campos microscópicos de cada amostra em estudo. A observação e documentação foram feitas em fotomicroscópio Olympus, modelo AX70, equipado com sistema fotográfico U-photo, no Laboratório de Anatomia vegetal.

As amostras foliares destinadas a diafanização foram fixadas em solução aquosa de etanol 50% v/v, onde permaneceram por uma semana, quando foram submetidas a hidratação com soluções aquosas de etanol, a partir de etanol aquoso 50% v/v até água. Em seguida, foram colocadas primeiro em solução de hidróxido de sódio (NaOH) 10% v/v, por cerca de duas horas, depois em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 20% v/v, por cerca de três horas, e por último em solução de cloral hidratado (CCl₃CHO · H₂O) 10% v/v, por cerca de uma hora. Os segmentos, antes de serem colocados nessas soluções, foram lavados exaustivamente com água destilada, eliminando-se, assim, resíduos da solução anterior. Posteriormente, iniciou-se a desidratação com soluções aquosas de etanol, de etanol 30% v/v até etanol 50% v/v, quando foi

submetido a coloração com fucsina ácida e azul de Astra (JOHANSEN, 1940). Em seguida, continuou-se a desidratação com soluções aquosas de etanol, com etanol/água 90 e 100% v/v e soluções de etanol 100% com xilol, nas proporções de 3:1, 1:1 e 1:3, e com solução de xilol puro. Posteriormente, as seções foram, então, montadas em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá. Nas lâminas diafanizadas identificou-se os tricomas presentes e estimou-se a densidade de tricomas tectores e glandulares.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento e Desenvolvimento

As variáveis massa fresca, Figura 1 (a), e seca, Figura 1 (b), da parte aérea das plantas de *T. parthenium* tiveram comportamento quadrático (Quadro 3). Fixando-se o nível de água no substrato dos vasos, verificou-se teor máximo de massa fresca, Figura 1 (a), aos 94 dias após início do controle hídrico, nas plantas a 90% da capacidade de campo, 137,4 g Teor similar foi obtido pelas plantas mantidas a 70% da capacidade de campo, 133,9 g de massa fresca, enquanto que as plantas mantidas a 100 e 50% da capacidade de campo do substrato alcançaram no máximo 129,9 g e 105,9 g de massa fresca, respectivamente. Portanto, considerando-se a matéria fresca das plantas a 90% da capacidade de campo do substrato como parâmetro, verificou-se redução de 5 e 23% no acúmulo de matéria fresca na parte aérea das plantas mantidas, respectivamente, em substrato a 100 ou 50% da capacidade de campo.

Durante todo o tempo monitorado verificou-se tendência a menor acúmulo de massa seca, Figura 1(b), nas plantas mantidas em substratos a 50% da capacidade de campo, enquanto os valores médios das plantas mantidas nos demais níveis hídricos muito se assemelharam. Aos 120 dias, as plantas crescidas em substrato a 50% e 70% da capacidade de campo tinham, respectivamente, 31,7 g e 38 g de matéria seca, enquanto que as plantas a

90% e 100% da capacidade de campo do substrato tinham, respectivamente, 40 g e 39,4 g de massa seca na parte aérea das plantas. A redução na disponibilidade hídrica do substrato, de 90 para 50% da capacidade de campo, portanto, causou redução de 22,5% no acúmulo de matéria seca na parte aérea.

Quadro 3. Equações ajustadas das variáveis massa fresca e seca da parte aérea, altura, número de folhas, área da folha maior e área foliar total das plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas em vasos mantidos a 100%, 90%, 70% ou 50% da capacidade de campo do substrato (A), em função da época (E) de colheita, em dias, após início do controle hídrico do substrato e respectivo coeficiente de determinação

Variável	Equação	r ²
Massa fresca	$Y = -212,951 + 2,99873^{**} E - 0,01591^{**} E^2 + 5,0865^{**} A - 0,0307^{**} A^2$	0,88
Massa seca	$Y = -33,1840 + 0,829771^{**} A - 0,00531682^{*} A^2 + 0,339270^{**} E - 0,000742193^{**} E^2 + 0,00103913 AE$	0,96
Altura	$Y = -31,0502 + 1,17312^{**} A - 0,00799654^{**} A^2 + 0,143925^{**} E + 0,00132887^{**} E^2 + 0,00164014 AE$	0,97
Número de folhas	$Y = -146,625 + 4,296645^{**} A - 0,0269311^{**} A^2 + 2,69310^{*} E - 0,130952^{**} E^2$	0,97
Área da folha maior	$Y = -2,67112 + 1,79749^{**} A - 0,0124073^{**} A^2 + 0,288828^{**} E - 0,00506598^{**} E^2$	0,74
Área foliar total	$Y = -9213,41 + 269,518^{**} A - 1,70805^{**} A^2 + 148,664^{*} E - 1,00880E^{**2} + 0,172173^{**} AE$	0,92

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

A redução no acúmulo de massa fresca e seca pode estar relacionada a alterações no crescimento das plantas e no processo fotossintético. Entre as causas de redução da fotossíntese, destaca-se a redução na concentração de dióxido de carbono (CO₂), ao nível de cloroplasto, causado pelo fechamento estomático (KUDREV, 1994).

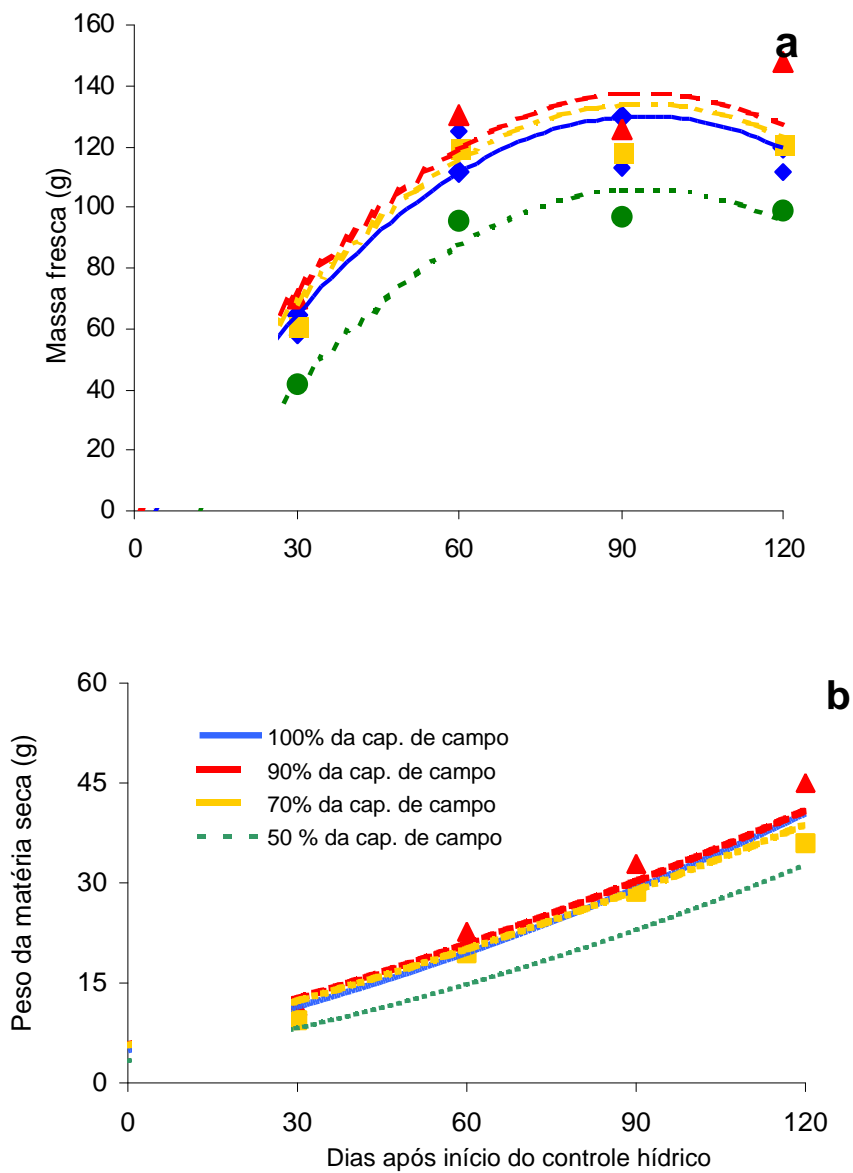


Figura 1. Estimativa da (a) massa da fresca e (b) seca das plantas de *Tanacetum parthenium*, crescidas em vasos nas condições de 50%, 70%, 90% ou 100% da capacidade de campo do substrato, em função dos dias após início do controle hídrico do solo.

As variáveis altura, número de folhas, área foliar total e área da folha maior das plantas crescidas a 100, 90, 70 ou 50% da capacidade de campo também tiveram comportamento quadrático, Quadro 3. Fixando-se o nível de água no substrato, verificou-se, aos 116 dias após início do controle hídrico do substrato dos vasos, maior altura nas plantas crescidas a 90% da capacidade de campo do substrato (0,61 m), seguidas pelas plantas mantidas a 100 ou 70% (0,60 m) da capacidade de campo, Figura 2 (a). As plantas crescidas em substrato a 50% da capacidade de campo foram cerca de 16% menores (0,51m) do que as plantas crescidas a 90% da capacidade de campo. Esses dados são similares aos descritos por SCHUCH et al. (1998), para plantas de *Chrysanthemum* mantidas em sistema de reduzido volume de irrigação (30% a menos do que o controle) por dez semanas consecutivas.

Fixando-se o nível de água no substrato, o número máximo de folhas (Figura 2 b) ocorreu, no 103º dia após início do controle hídrico, nas plantas crescidas a 90 ou 70% da capacidade de campo (160 folhas), enquanto que nas plantas mantidas a 100 ou 50% da capacidade de campo do substrato verificou-se, respectivamente, 152 e 139 folhas nesse mesmo dia. A redução na disponibilidade hídrica, de 90 para 50% da capacidade de campo do substrato, portanto, causou redução de 13% no número de folhas.

Fixando-se o nível de água no substrato dos vasos, obteve-se valores máximos de área foliar total por planta, Figura 3 (a), no 65º dia após início do controle hídrico nas plantas a 70% da capacidade de campo do substrato (0,59 m²), seguidas das plantas a 90% da capacidade de campo (0,56 m²), e das plantas a 100% (0,49 m²) ou 50% (0,48 m²) da capacidade de campo do substrato. A redução no nível hídrico do substrato de 90% para 50% causou redução de 14% na área foliar total, enquanto que a redução no nível hídrico de 90% para 70% causou aumento de 5% na área foliar total por planta. Aos 120 dias de controle hídrico do substrato dos vasos, as plantas a 100 e 90% da capacidade de campo tinham, em média, 0,21 m² e 0,31 m² de área foliar total, enquanto as plantas a 70 ou 50% da capacidade de campo alcançaram 0,29 m² e 0,28 m², respectivamente.

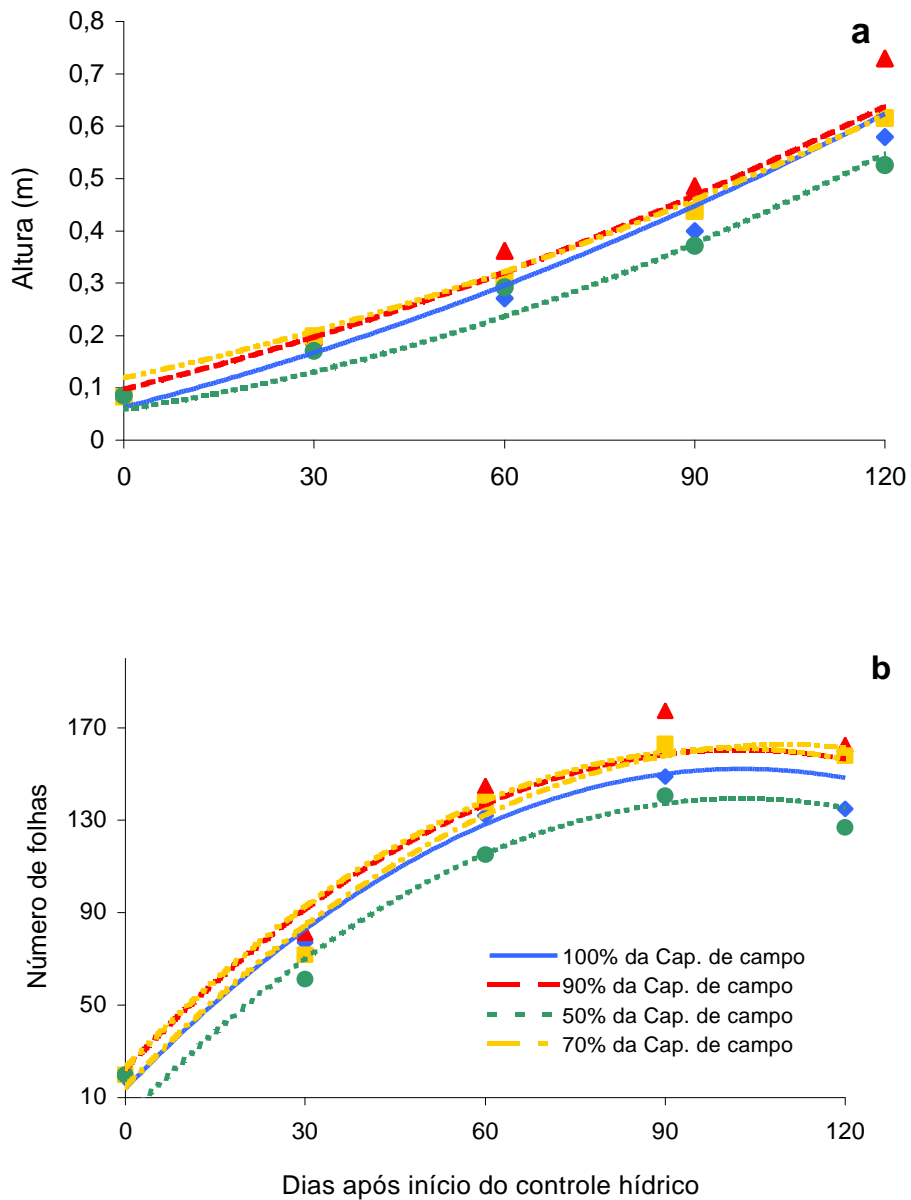


Figura 2. Estimativa da (a) altura e do (b) número de folhas das plantas de *Tanacetum parthenium*, crescidas em vasos nas condições de 50%, 70%, 90% ou 100% da capacidade de campo do substrato, em função dos dias após início do controle hídrico.

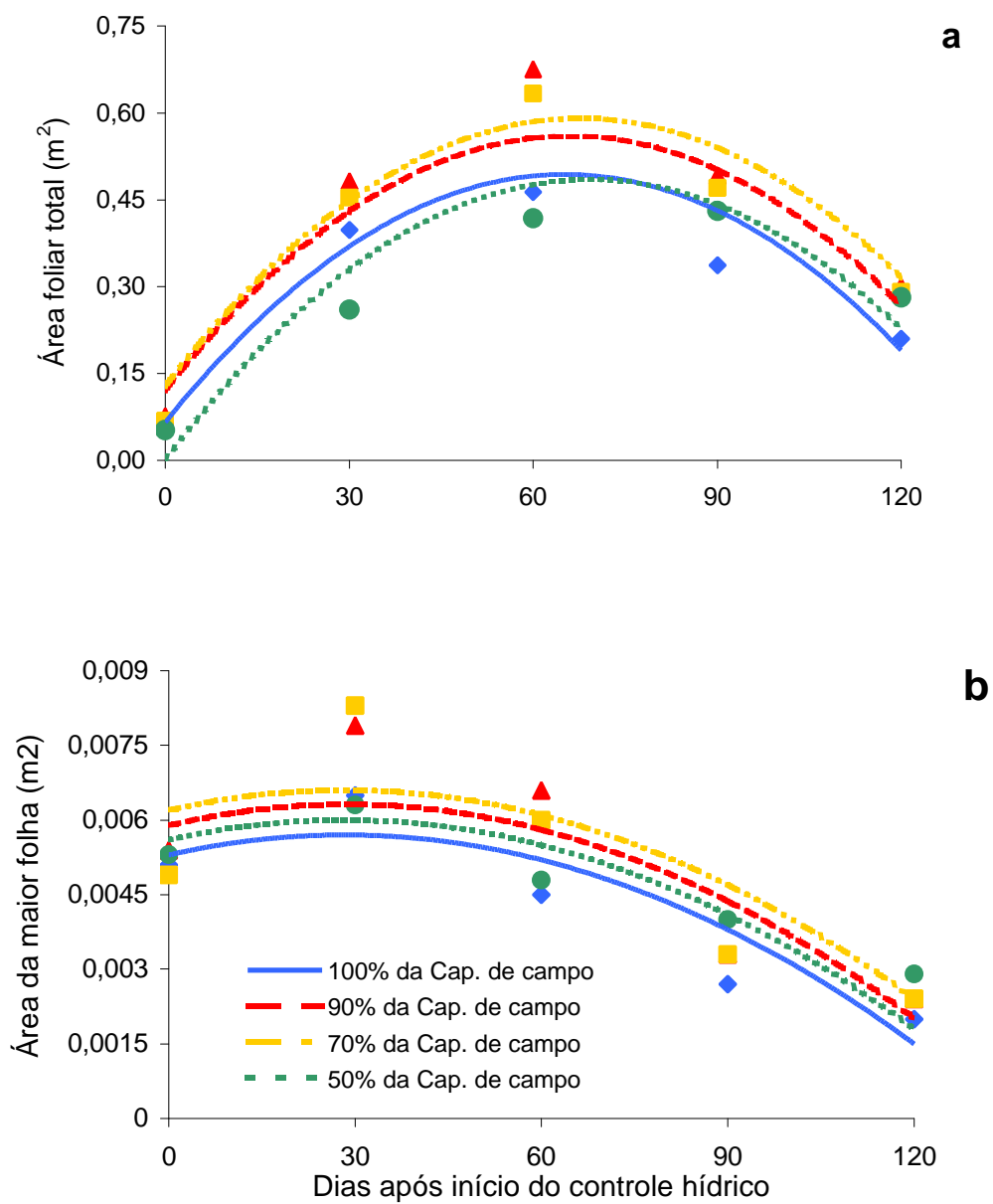


Figura 3. Estimativa da (a) área foliar total por planta e da (b) área da folha maior das plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas em vasos nas condições de 50%, 70%, 90% ou 100% da capacidade de campo do substrato, em função dos dias após início do controle hídrico.

Verificou-se tendência a decréscimo na área da folha maior com o tempo, Figura 3 (b). Segundo GRANIER e TARDIEU (1999) o efeito da deficiência de água no substrato, mesmo por curto tempo é visível, tanto na área foliar quanto no número de folhas.

Os coeficientes de correlação simples das variáveis altura (H), número de folhas (NF), área da maior folha (AF1), área foliar total de cada planta (AF), e massa fresca (MF) e seca (MS) da parte aérea das plantas crescidas a 100%, 90%, 70% e 50% da capacidade de campo do substrato são mostrados no Quadro 4. Verificou-se correlação alta e positiva entre altura e acúmulo de massa seca, número de folhas e acúmulo de massa fresca ou seca, acúmulo de massa fresca e de massa seca; e correlação alta e negativa entre área da maior folha e altura, área da maior folha e número de folhas e área da maior folha e massa seca.

Quadro 4. Estimativa dos coeficientes de correlação simples das variáveis altura (H), número de folhas (NF), área da maior folha (AM), área foliar total de cada planta (AF), e massa fresca (MF) e seca (MS) da parte aérea das plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a 100, 90, 70 ou 50% da capacidade de campo (CC).

Nível de água	Variáveis	Variáveis					
		H	NF	AM	AF	MF	MS
100%CC	H	1,0000	0,5924**	-0,7819**	-0,6599**	0,4933*	0,8860**
	NF		1,0000	-0,7285**	-0,1072 ^{NS}	0,7974**	0,8050**
	AM			1,0000	0,7199**	-0,5605**	-0,8344**
	AF				1,0000	0,0108 ^{NS}	-0,5230*
	MF					1,0000	0,6686*
	MS						1,0000
90% CC	H	1,0000	0,7117**	-0,9305**	-0,6222**	0,8310**	0,9802**
	NF		1,0000	-0,8018**	-0,0556 ^{NS}	0,9061**	0,7864**
	AM			1,0000	0,6074**	-0,8013**	-0,9556**
	AF				1,0000	-0,1425 ^{NS}	-0,5756**
	MF					1,0000	0,8709**
	MS						1,0000
70% CC	H	1,0000	0,7474**	-0,8903**	-0,6131**	0,5980**	0,9219**
	NF		1,0000	-0,8947**	-0,0887 ^{NS}	0,8036**	0,8527**
	AM			1,0000	0,4806*	-0,7727**	-0,9452**
	AF				1,0000	-0,0366 ^{NS}	-0,5012**
	MF					1,0000	0,7561**
	MS						1,0000
50% CC	H	1,0000	0,7375**	-0,8600**	-0,0920 ^{NS}	0,7227**	0,9508**
	NF		1,0000	-0,7535**	0,4924	0,9317**	0,8294**
	AM			1,0000	0,1569 ^{NS}	-0,7441**	-0,9018**
	AF				1,0000	0,4664*	0,0003 ^{NS}
	MF					1,0000	0,8041**
	MS						1,0000

*, ** e ^{NS} indicam, respectivamente, significativo a 5 ou 1%, e não significativo a 5% pelo teste t de Student

Esses dados indicam que o acúmulo de massa seca na parte aérea das plantas de *T. parthenium* está diretamente associado ao crescimento em altura e ao aumento no número de folhas, e inversamente associado ao aumento na área da folha maior. De fato, verificou-se que as dimensões das folhas diminuíram à medida que a altura das plantas e o número de folhas aumentou, Quadro 4. Segundo STEINER et al. (1990), a rapidez com que a deficiência hídrica no substrato torna-se severa ou suficiente, restringindo o crescimento e a capacidade de manutenção das plantas depende do tipo de substrato, dimensão da planta, profundidade radicular e demanda evaporativa. Segundo KUDREV (1994), a deficiência hídrica interrompe o processo de crescimento, não só por diminuir o acúmulo de massa fresca e seca, mas também por alterar o processo de crescimento, e acelerar os processos catabólicos. Segundo ENGLISH-LOEB et al. (1997), o crescimento é rapidamente reduzido mesmo em situações de estresse moderado.

As plantas crescidas a 90% da capacidade de campo foram as primeiras a emitir botão floral, em média aos 81 dias após início do controle hídrico do substrato. Além disso, o número de plantas com botão e ou inflorescência até o fim do experimento foi maior nesse nível de água no substrato. O maior atraso no aparecimento de botão floral aconteceu nas plantas a 100% da capacidade de campo, seguidas das plantas a 50% da capacidade de campo, condições em que verificou-se menor número de plantas com botão floral, Quadro 5.

Quadro 5. Tempo médio, em dias após início do controle hídrico do substrato dos vasos, de emissão de botões florais, e número médio, em porcentagem, de plantas de *Tanacetum parthenium* com botão, em cada parcela, crescidas em vasos nas condições de 100, 90, 70 ou 50% da capacidade de campo (CC).

Nível de água	Tempo médio para aparecer botão floral (dias)	Número de plantas com botão/ parcela (%)
100% CC	97,0	40,6
90% CC	81,0	68,8
70% CC	89,0	62,5
50% CC	94,0	50,0

3.2. Anatomia foliar

As variáveis espessura total da lâmina foliar, espessura da epiderme abaxial, da epiderme adaxial, do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso e comprimento das células do parênquima paliçádico, das células do parênquima lacunoso e das células da epiderme adaxial das plantas de *T. parthenium* não variaram significativamente, em função do nível de água (A) no substrato dos vasos e da época (E) de colheita, Quadro 6. A redução do crescimento das plantas resulta, em geral, de alterações internas na organização estrutural e na atividade funcional. Apesar do crescimento ter sido alterado, em função da condição hídrica do substrato, a espessura total das folhas, dos tecidos constituintes e o comprimento das células não foi alterado significativamente.

Quadro 6. Equações ajustadas das variáveis espessura foliar total, espessura das epidermes abaxial e adaxial, dos tecidos de preenchimento, parênquimas paliçádico e lacunoso, e o comprimento das suas células constituintes nas plantas de *Tanacetum parthenium*, em função do nível de água (A) no substrato e da época (E) de colheita, em dias após início do controle hídrico do substrato

Variável	Equação
Espessura foliar total	$Y = 2,40$
Espessura da epiderme abaxial	$Y = 0,18$
Espessura da epiderme adaxial	$Y = 0,19$
Espessura do parênquima paliçádico	$Y = 0,92$
Espessura do parênquima lacunoso	$Y = 1,20$
Comprimento das células do parênquima paliçádico	$Y = 0,18$
Comprimento das células do parênquima lacunoso	$Y = 0,34$
Comprimento das células da epiderme adaxial	$Y = 0,27$

3.3. Aspectos Metabólicos

A variável teor relativo de clorofila das folhas, Figura 4 (a), à semelhança das variáveis de crescimento, Figuras 1 a 3, teve comportamento quadrático, Quadro 7. Fixando-se o nível de água no substrato dos vasos obteve-se médias maiores de teor relativo de clorofila nas plantas a 50% da capacidade

de campo, aos 50 dias após início do controle hídrico do substrato: 47,1 SPAD, enquanto as plantas a 100 e 90% da capacidade de campo do substrato tinham 37,2 e 36,1 SPAD, respectivamente. Considerando-se o nível hídrico de 90% da capacidade de campo como parâmetro na comparação do efeito dos níveis hídricos sobre o teor relativo de clorofila, verificou-se que o teor de clorofila nas plantas a 50% da capacidade de campo foi 30% maior nesse período. Em todas as épocas de colheita, no entanto, verificou-se maior teor de clorofila nas plantas a 50% da capacidade de campo.

Quadro 7. Equações ajustadas das variáveis teor de prolina, teor relativo de clorofila, teor de partenólídeo por planta e porcentagem de partenólídeo na parte aérea das plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas em vasos mantidos a 100%, 90%, 70% ou 50% da capacidade de campo (A) em função da época (E) de colheita, em dias, após início do controle hídrico e respectivo coeficiente de determinação

Variável	Equação	r ²
Prolina	$Y = 49,6427 - 0,416551^{**} A - 0,0884087^{**} E + 0,000851189^{**} AE$	0,71
Clorofila	$Y = 85,6517 - 1,31725^{**} A + 0,00779546^{*} A^2 + 0,311021^{**} E - 0,00206773^{**} E^2 - 0,000976980^{**} AE$	0,65
Partenólídeo/planta	$Y = -1,41626 + 0,0272480^{**} A + 0,0549677^{**} E - 0,000308857^{*} E^2 - 0,000173490^{**} AE$	0,31
Partenólídeo(%)	$Y = -526,205 + 14,2963^{**} E - 0,0752334^{*} E^2 + 4,59669^{*} A$	0,50

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

A síntese de clorofila pode ser altamente sensível a baixo potencial hídrico foliar. Deficiência hídrica, em algumas plantas, causa redução significativa no teor de clorofila das folhas verdes (NAUTIYAL et al., 1996). As leituras do teor de clorofila relativo por meio do medidor de clorofila portátil SPAD-502 estimam, em milho, segundo ARGENTA et al. (2001), adequadamente o grau de esverdeamento da folha, ou seja, o teor relativo de clorofila na folha, independente do estágio de desenvolvimento. Além disso,

segundo dados dos mesmos autores, o teor relativo de clorofila estimado em milho, por meio do SPAD-502, correlaciona-se positivamente com o teor de clorofila total extraível. A partir disso sugere-se que é mais provável que o aumento no esverdeamento das folhas deveu-se a alterações na proporção de clorofila *a*/ clorofila *b* do que a aumento real no teor de clorofila.

O teor de prolina livre, Figura 4 (b), por sua vez, nas folhas de *T. parthenium* mantidas a 100, 90 ou 70% da capacidade de campo, variou em torno de 9 a 14 $\mu\text{g/g}$ de massa fresca, enquanto que nas plantas mantidas em substratos a 50% da capacidade de campo variou em torno de 27 a 32 $\mu\text{g/g}$ de massa fresca.

A redução na disponibilidade de água no substrato dos vasos de 90 a 50% da capacidade de campo do substrato causou aumento de mais de duas vezes no teor de prolina livre dessas plantas, o que segundo BATES et al. (1973), é sintoma característico de estresse. O acúmulo de prolina parece variar com a espécie da planta, sendo que muitas espécies mostram aumento de várias vezes. Aos dez dias de deficiência hídrica severa, plantas de *Vigna unguiculata* L., por exemplo, tiveram aumento de quatro vezes no teor de prolina crescendo em substrato com 21,4% de umidade (SOMAL e YAPA, 1998).

O acúmulo de prolina é resposta genérica a estresse, desde que ocorre em situações de estresse hídrico, salino, e de frio (MARUR et al., 1994). Portanto, sugere-se que o grande aumento no teor de prolina proporcionou ajuste osmótico às plantas mantidas a 50% da capacidade de campo por 120 dias.

Em condições de deficiência hídrica (70% e 50% da capacidade de campo), as plantas de *T. parthenium* foram capazes de manter crescimento em altura, em número de folhas, na área foliar, no acúmulo de massa fresca e seca na parte aérea, apesar dessas variáveis serem de 13 a 23% menores nas plantas mantidas a 50% da capacidade de campo. O lento desenvolvimento da condição de déficit hídrico pode induzir ajuste osmótico em algumas espécies, resultando na manutenção do turgor celular a baixos potenciais hídricos. Sugere-se que em função do ajuste osmótico, as plantas tenham conseguido se adaptar a nova condição hídrica do substrato sem modificar

significativamente a espessura dos tecidos constituintes e apresentando apenas pequena diferença na taxa de crescimento relativo.

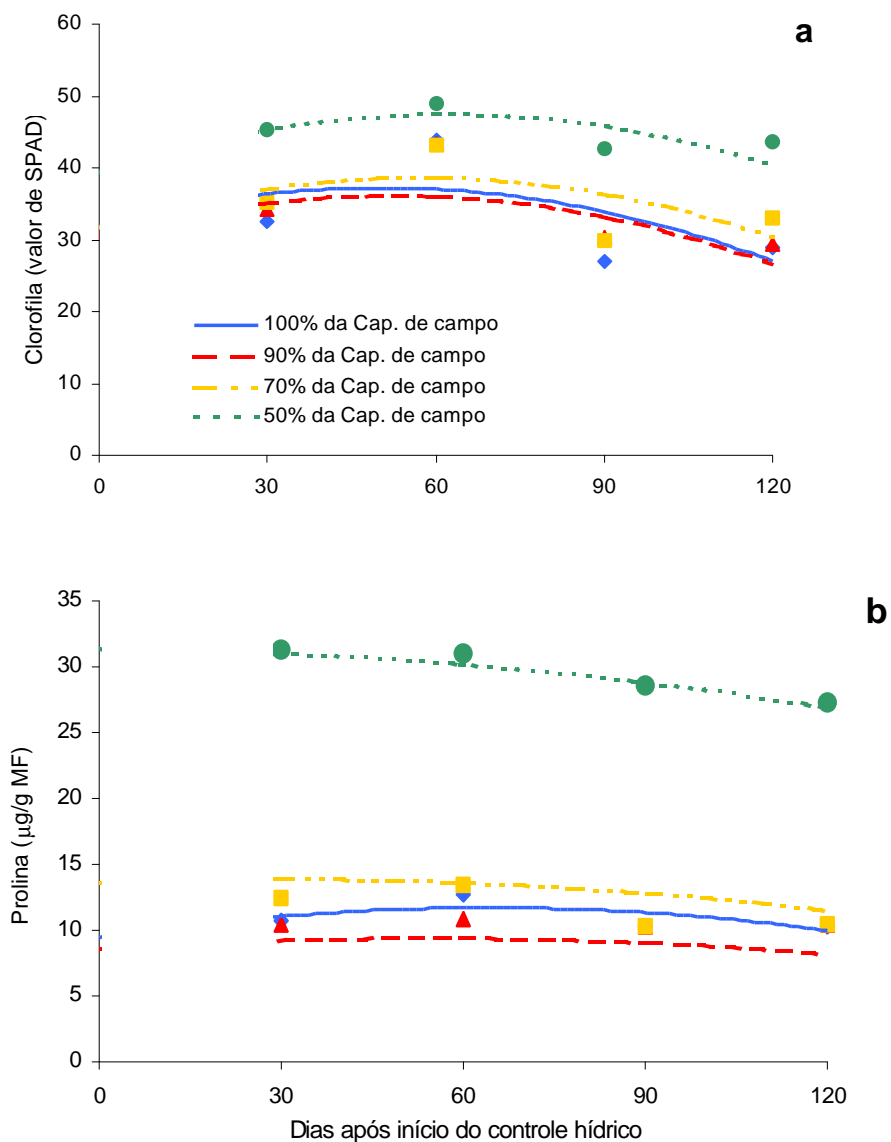


Figura 4. Estimativa do conteúdo de clorofila total (a) e de prolina (b) em folhas de *T. parthenium*, nas condições de 100%, 90%, 70% e 50% da capacidade de campo do solo, em função da época de colheita, em dias após início do controle hídrico do solo.

A tendência a maior teor de prolina livre em plantas crescidas em condição de deficiência hídrica é verificada freqüentemente (KUMAR e SINGH, 1998; SOMAL e YAPA, 1998). Alguns autores, no entanto, não acreditam em qualquer aumento apreciável no teor de prolina livre, enquanto outros preferem considerar níveis aumentados de prolina simplesmente como efeitos conseqüentes da situação estressante, mais do que como causa de tolerância a estresse (MADAN et al., 1995). O aumento nos níveis de prolina em condições de déficit hídrico pode ter várias causas. Acredita-se que protejam os tecidos vegetais contra esses estresses ao servirem como reserva de nitrogênio, osmo-soluto e protetor hidrofóbico de enzimas e estruturas celulares (MADAN et al., 1995; SOMAL e YAPA, 1998).

Navari-Izzo et al. (1990), citados por MARUR et al. (1994) sugeriram que o aumento no teor de aminoácidos livres poderia contribuir na tolerância da planta à deficiência hídrica, por meio de aumento no potencial osmótico, ou como reserva de nitrogênio, principalmente na síntese de enzimas específicas. O mecanismo de acúmulo de prolina em situações estressantes, entretanto, não é claramente entendido ainda. Decréscimo nos níveis de proteína poderia, segundo os mesmos autores, refletir diminuição da síntese ou aumento da degradação, levando a altos níveis de aminoácidos livres. Segundo MADAN et al. (1995) o maior teor de prolina pode ser devido também a maior atividade das enzimas envolvidas na biossíntese de prolina (ornitina aminotransferase e pirrolina-5-carboxilase reductase), tanto quanto devido a inibição da prolina oxidase, enzima de degradação. Desde que os efeitos de deficiência hídrica dependem da espécie, tecido e idade, tanto quanto da natureza, duração e intensidade do estresse, não é surpreendente que marcantes diferenças venham sendo encontradas no padrão de aminoácidos em plantas em condição de estresse (MARUR et al., 1994).

Como as plantas a 100% da capacidade de campo tiveram níveis de clorofila e prolina similares aos das plantas a 90 ou 70% da capacidade de campo, sugere-se que esse nível de água não foi excessivo, uma vez que não chegou a ser condição estressante às plantas de *T. parthenium*. As plantas crescidas a 50% da capacidade de campo, ao contrário, como tiveram grande aumento no teor de prolina, sugere-se que tornaram-se estressadas devido a redução na disponibilidade de água no substrato dos vasos.

Segundo WINTER (1988), o potencial de água das plantas pode ser medido em termos do teor total de água nos tecidos vegetais ou em termos de energia da água (potencial hídrico). Este parâmetro, segundo o mesmo, pode ser obtido, tanto por meio de equipamentos específicos, como a bomba de Scholander, como por meio de métodos simples, mas demorados, de pesagem de discos foliares frescos, túrgidos e secos em estufa. Como nenhum meio rápido de avaliar o potencial hídrico foi disponível, e o tempo foi pouco não realizou-se tais medições.

As variáveis teor de partenólídeo, em porcentagem, ou por planta individual, em relação à massa seca da parte aérea tiveram comportamento quadrático, Quadro 7. A porcentagem de partenólídeo na parte aérea foi maior nas plantas crescidas a 100 ou 90% da capacidade de campo do substrato, antes da emissão dos botões florais, Figura 5 (a). Segundo HENDRIKS et al. (1997) o teor de partenólídeo é mais alto, de fato, nos estádios iniciais do desenvolvimento da planta.

Fixando-se o nível hídrico do substrato, obteve-se porcentagem máxima de partenólídeo (2,45%) nas plantas mantidas a 100% da capacidade de campo, no 61º dia após início do controle hídrico do substrato. Considerando-se a porcentagem de partenólídeo das plantas a 90% da capacidade de campo como parâmetro na comparação dos demais níveis hídricos estudados, verifica-se porcentagem 18% maior nas plantas a 100%, 5% menor nas plantas a 70%, e 28% menor nas plantas a 50% da capacidade de campo. A redução no nível hídrico do substrato, portanto, diminuiu a porcentagem de partenólídeo nas plantas. Dependendo da espécie, a deficiência hídrica pode aumentar, diminuir ou não ter efeito sobre os níveis de metabólitos secundários (Holtzer et al., 1988, citados por SINGH-SANGWAN et al., 1994). Além disso, o efeito varia muito em função do tipo de metabólito secundário, duração e intensidade da condição estressante.

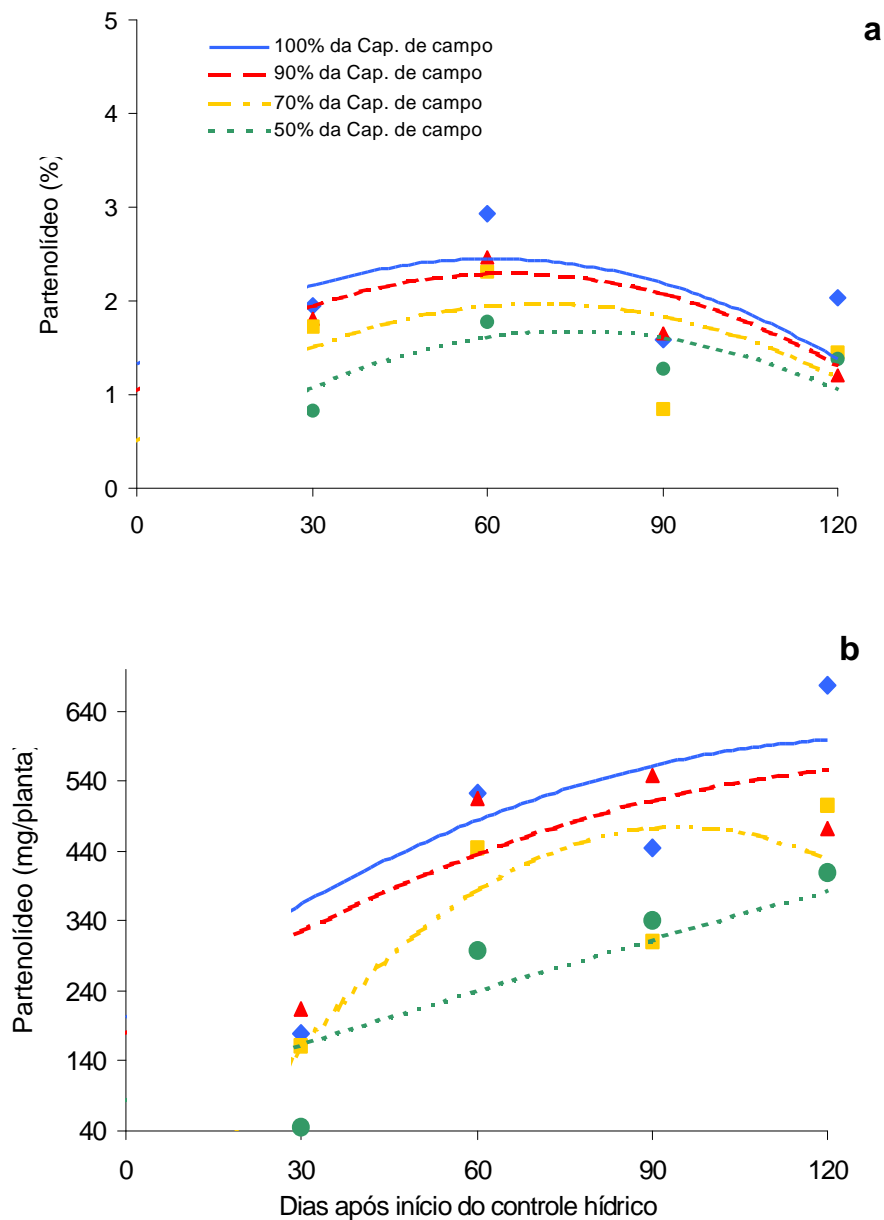


Figura 5. Estimativa do conteúdo de partenolídeo, em porcentagem (a), e por planta individual, em relação a massa seca da parte aérea das plantas de *T. parthenium* (b) das plantas crescidas nas condições de 100%, 90%, 70% ou 50% da capacidade de campo do solo, em função da época de colheita, em dias após início do controle hídrico do solo.

BROWN et al. (1997; 1999) obtiveram $1,72\% \pm 0,16\%$ de partenólídeo, a partir do extrato, em acetona, das lâminas foliares de *T. parthenium*. Esse teor é intermediário aos obtidos a partir do extrato, em clorofórmio, da parte aérea das plantas crescidas a 70% da capacidade de campo do substrato (1,98%) e 50% da capacidade de campo do substrato (1,49%). A partir dos testes preliminares realizados no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (UFV), verificou-se que a quantidade de partenólídeo extraída em acetona e em clorofórmio são similares. Sugere-se, portanto, que a porcentagem maior de partenólídeo detectada naquelas amostras das plantas crescidas na capacidade de campo é decorrente das condições de cultivo, particularmente do nível de água no substrato em que as plantas cresceram.

A porcentagem de 2,45% de partenólídeo foi obtida a partir da extração desse metabólito a partir de amostra da parte aérea das plantas, sem ramos ou hastes maiores, em clorofórmio, mas mantendo pecíolos, nervuras e hastes menos espessas. Os ramos ou hastes mais espessos foram removidos com a finalidade de facilitar a moagem das plantas, mas segundo HENDRICKS et al. (1997) nesse órgão as quantidades de partenólídeo são desprezíveis.

O teor máximo de partenólídeo por planta individual, em relação a massa seca da parte aérea, Figura 5 (b), obtido fixando-se o nível hídrico do substrato, ocorreu no 95º dia após início do controle hídrico, nas plantas a 100% da capacidade de campo: 612,6 mg/planta. Nas plantas a 90, 70 e 50% da capacidade de campo do substrato, o teor máximo de partenólídeo por planta individual foi, respectivamente, 7,5%, 22,5% e 37,5% menor do que nas plantas crescidas na capacidade de campo.

A quantidade de partenólídeo por planta individual aumentou gradualmente durante o crescimento destas. Segundo HENDRIKS et al. (1997) isso é causado pela formação de mais folhas e inflorescências durante o desenvolvimento da planta. Os botões florais, ainda segundo HENDRIKS et al. (1997), podem ter até 1% de partenólídeo. No entanto, a senescência e perda das folhas da parte inferior das plantas podem concorrer negativamente com os botões florais, causando redução na produção de partenólídeo por planta individual.

A redução na produção de metabólitos secundários terpenóides, em situação estressante, pode ser estratégia de sobrevivência da planta, já que segundo GERSHENZON (1994), o custo de produção de terpenóides, como o partenólídeo, é maior do que o da maioria dos outros metabólitos primários e secundários. Além disso, o custo energético de produção das enzimas biossintéticas é alto, porque essas enzimas aparentemente não são comuns a outras rotas metabólicas. Desse modo, a concentração desses metabólitos nas plantas, em geral, é na faixa de 1-2% da massa seca, podendo, no entanto alcançar 15-20% da massa seca em algumas espécies (PEÑUELAS e LLUSIÀ, 1997).

O modo como o teor das defesas químicas é alterado em resposta ao estresse por deficiência hídrica não tem sido, ainda, especificamente bem caracterizado em muitas espécies de plantas. O efeito varia com a espécie da planta, tempo e intensidade da condição estressante. As defesas baseadas no nitrogênio, tais como os alcalóides, tendem a aumentar em resposta ao estresse hídrico. Em defesas não baseadas no nitrogênio, o padrão é ainda menos conhecido. Em muitos casos, entretanto, tem sido verificado que a deficiência hídrica moderada resulta em níveis aumentados de defesas não baseadas em nitrogênio, tais como taninos, resinas, e óleos. Há argumentos em que a resposta poderia ocorrer passivamente, desde que as plantas são rápidas em reduzir a taxa de crescimento em condição de estresse moderado, enquanto o processo fotossintético seria mantido. Isso causa acúmulo de carboidratos, que podem ser convertidos em substâncias de defesa. Segundo ENGLISH-LOEB et al. (1997), estresses mais severos podem causar redução nas defesas, tanto quanto no crescimento e fotossíntese, enquanto que estresses mais amenos podem ter conseqüências diferentes de estresse moderado ou severo para a planta e seus parasitas (ENGLISH-LOEB et al., 1997).

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas em vasos com substrato mantido na capacidade de campo, ou a 90%, 70% ou 50% da capacidade de campo foram comparadas quanto ao crescimento da parte aérea, anatomia foliar, teor de prolina e teor relativo de clorofila nas folhas expandidas da parte superior das mesmas, e teor de partenólídeo na parte aérea.

Os efeitos dos níveis hídricos do substrato sobre o crescimento foram determinados acompanhando-se as alterações na altura, número de folhas, área foliar e acúmulo de massa fresca e seca. Verificou-se reduções de 16% na altura, 13% no número de folhas, 14% na área foliar total de cada planta, 22,5% no acúmulo de massa fresca e 23% na massa seca na parte aérea das plantas crescidas a 50% da capacidade de campo, comparando-se com as médias das plantas crescidas a 90% da capacidade de campo. As plantas crescidas na capacidade de campo tiveram durante todo o tempo monitorado, exceto para área foliar total, médias 1 a 5% menores do que nas plantas mantidas a 90% da capacidade de campo.

Apesar das variáveis de crescimento terem sido alteradas pelo nível hídrico do substrato, a espessura total das folhas expandidas mais superiores das plantas, assim como das epidermes e dos tecidos do mesofilo não foram modificadas significativamente pela redução nos níveis hídricos. O teor de clorofila nas folhas expandidas, em quaisquer dos níveis hídricos do substrato, decresceu com o tempo. As plantas mantidas a 50% da capacidade de campo tiveram maior teor de clorofila e de prolina do que as plantas crescidas a 90% da capacidade de campo, durante todo o tempo acompanhado. Nessas plantas verificou-se também menor produção de partenólídeo. O nível hídrico que propiciou maior teor de partenólídeo nas plantas correspondeu a capacidade de campo do substrato.

CAPÍTULO 3

EFEITOS DA IRRADIÂNCIA NO CRESCIMENTO, TEOR DE AÇÚCARES E DE PARTENOLÍDEO EM ARTEMÍSIA

1.INTRODUÇÃO

Cada planta resulta das suas informações genéticas e do ambiente onde cresce. O ambiente de crescimento muda constantemente durante o tempo de vida da planta. Como os processos de crescimento e desenvolvimento dependem das adaptações a variáveis ambientais, plantas do mesmo genótipo podem diferir significativamente no crescimento e na composição química (KASPERBAUER, 1994). A evolução da plasticidade fenotípica, isto é da capacidade de um genótipo responder à variação ambiental, tem despertado grande interesse atualmente. A plasticidade será adaptativa quando o fenótipo induzido por alguma situação conferir maior eficiência naquele ambiente do que os demais fenótipos (SCHMITT, 1997).

No ambiente, consideram-se as variáveis: umidade disponível no solo, quantidade e solubilidade de nutrientes minerais, acidez da solução do solo, luz, doenças, insetos e temperatura do ar e do solo (KASPERBAUER, 1994). A luz tem importante papel na vida das plantas, não apenas como fonte de energia, mas também como sinal ambiental (KAGAWA e WADA, 1999).

O fluxo de fótons precisa ser absorvido por alguma molécula, como a clorofila e o fitocromo, para produzir efeito. O subsequente comportamento dessa molécula depois de absorver luz, determinará seu uso e efeito sobre a

planta: formativo, fotoperiódico ou trófico (WHATLEY e WHATLEY, 1982; HORNOK, 1992; CARVALHO e CASALI, 1999). No entanto, nem toda a radiação que atinge as plantas tem efeito sobre elas. A radiação fisiologicamente ativa é aquela que tem comprimentos de onda que induzem respostas fisiológicas nas plantas (WHATLEY e WHATLEY, 1982; BERNARDES, 1987).

As plantas são transformadoras primárias de energia solar, por meio da fotossíntese, sendo sua eficiência fator determinante da produtividade agrícola. Os incrementos em produtividade potencial das plantas têm sido derivados, principalmente, do aumento da proporção de massa seca acumulada nas partes de aproveitamento econômico, e pouco em função de aumentos nas taxas de crescimento (BERNARDES, 1987).

A relação entre fotossíntese e produtividade é muito complexa. A inexistência de relação direta entre elas é, provavelmente, explicada pela dependência da produtividade das culturas e da taxa de assimilação líquida. A produtividade não é determinada somente pela taxa fotossintética, mas também pela dimensão da área foliar, duração do período vegetativo, arquitetura da copa, respiração, transporte e partição de fotoassimilados (BERNARDES, 1987; KASPERBAUER, 1994). As concentrações de carboidratos nas plantas, por sua vez, podem refletir diretamente as taxas de fotossíntese, no momento da formação dos carboidratos (HENDRY et al., 1993; KASPERBAUER, 1994).

Na maioria das plantas superiores, a distribuição de açúcares começa com a fixação de carbono nos cloroplastos da folha. No cloroplasto, o carbono é convertido em amido, destinado ao armazenamento temporário, e no citosol é convertido em sacarose, para transporte a outras partes da planta. A sacarose, principal açúcar solúvel das plantas, também pode ser temporariamente armazenada no vacúolo. A distribuição de açúcares dentro da planta é regulada por interações fonte-dreno, que são o principal fator controlador da sua distribuição dentro da planta (DICKSON, 1991).

O fluxo de fótons fotossintético que atinge as folhas é dado pela irradiância, que é o fluxo radiante interceptado por unidade de área (BERNARDES, 1987). Os estudos sobre o efeito da irradiância nas plantas medicinais referem-se principalmente a redução da incidência de luz devido ao

sombreamento das plantas. A maioria desses estudos relaciona-se ao papel da luz na síntese de óleos essenciais. O acúmulo de óleos essenciais depende, também, direta ou indiretamente da luz. De modo geral, o sombreamento associa-se ao significativo decréscimo no teor de óleos essenciais, podendo até mesmo afetar a composição desses óleos. Em alguns casos, a composição dos óleos apenas é modificada quando há alteração no fotoperíodo (YAMAURA et al., 1989; DUDAI et al., 1992; LI et al., 1996).

Na situação de sombreamento natural, causada pela sobreposição das folhas, há baixa relação de radiação vermelho/vermelho distante, e deficiência de radiação fotossinteticamente ativa, devido à filtragem seletiva dos pigmentos fotossintéticos (MURCHIE e HORTON, 1997).

Essencialmente, as plantas podem evitar o sombreamento, ou podem tolerá-lo. As angiospermas, em particular, têm desenvolvido grande capacidade de evitar a sombra. Este pode ser um dos fatores que tem contribuído para seu sucesso evolutivo. A capacidade de evitar o sombreamento é importante estratégia dessas plantas, e conseqüência indubitável da multiplicidade de respostas que são disponíveis às plantas sombreadas (SMITH e WHITELAM, 1997).

As respostas ao sombreamento são muitas e variadas. As reações envolvidas nesse processo são todas iniciadas pelo mesmo sinal ambiental, ou seja, redução na proporção de radiação vermelho/vermelho distante, que ocorre dentro de comunidades vegetais densas (SMITH e WHITELAM, 1997). As plantas têm desenvolvido, no decorrer da evolução, vários fotorreceptores capazes de perceberem informações sobre seu ambiente luminoso. O fitocromo é de uma família de fotorreceptores das plantas que absorvem luz, principalmente, nas regiões espectrais do vermelho e vermelho distante (DEVLIN et al., 1999). Tem sido sugerido que a sensibilidade a vermelho/vermelho distante, mediada pelo fitocromo, é adaptativa, porque capacita a planta a antecipar e evitar a competição pela luz em ambientes densos (SCHMITT, 1997).

As folhas aclimatam-se fotossinteticamente à condição de alta (folhas de sol) ou baixa (folhas de sombra) irradiância luminosa, por meio de alterações anatômicas e fisiológicas (SIMS e PEARCY, 1992). A anatomia das folhas de sombra, juntamente com suas propriedades fisiológicas, a capacitam a utilizar

baixas intensidades luminosas eficientemente (BERNARDES, 1987). As folhas crescidas ao sol são geralmente menores, mais espessas e com maior capacidade fotossintética por unidade de área, devido a maior quantidade de enzimas e maior condutância estomática (FRIEND e POMEROY, 1970; SIMS e PEARCY, 1992).

Esse trabalho teve por finalidade verificar efeitos de três níveis de irradiância no crescimento, aspectos morfofisiológicos e sobre o teor de partenólídeo de plantas de *Tanacetum parthenium* durante seu crescimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Plantas

Plantas de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz.-Bip foram obtidas de sementes cedidas pelo Grupo Entre Folhas (Universidade Federal de Viçosa, UFV). A semeadura foi realizada em bandejas de isopor, preenchidas com terra/areia no dia 27 de março de 1999. Aproximadamente após dois meses, plantas com cerca de 0,11 m e com 15 folhas, em média, foram transplantadas em vasos de dez litros, preenchidos com substrato constituído por terra:areia:esterco bovino curtido, na respectiva proporção de 3:2:1. O experimento começou um mês depois.

2.2. Tratamentos

Os tratamentos constituíram-se da combinação de três níveis de irradiância e de seis épocas de colheita. As colheitas manuais foram feitas aos 30, 45, 60, 75, 90 e 105 dias após início do experimento de sombreamento. O nível de maior irradiância correspondeu à condição de crescimento a pleno sol, e os níveis de menor irradiância foram obtidos por meio de sombreamento. A redução na irradiância foi realizada um mês após o transplante em vasos, sendo propiciada por telas plásticas (sombrite) pretas, as quais permitiram a passagem de apenas 70 ou 50% de luz. As telas foram afixadas em armações de bambu com altura de 1,5 m, cobrindo as plantas na parte superior e laterais. A condição de maior irradiância, ao contrário, constituiu-se do cultivo a pleno

sol, sem utilização de qualquer cobertura plástica. O nível de sombreamento foi conferido, determinando-se, uma vez por semana durante todo o experimento, o nível de luminosidade, em três horários (às 8:30, 12:00 e 16:00 horas), por meio de luxímetro (Quadro 1).

Quadro 1. Médias da irradiância (μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), determinada, regularmente, em três horários, por meio de luxímetro, que alcançava as plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a 0, 30 ou 50% de sombreamento de junho a outubro de 1999

Horário	Nível de Sombreamento		
	0% (pleno sol)	30%	50%
8:30	142	106	80
12:00	730	523	382
16:00	338	132	63

2.3. Instalação do Experimento e Análise Estatística

O experimento foi conduzido no viveiro de plantas ornamentais da UFV, no período de 24 de maio a 8 de outubro de 1999. As condições ambientais e a evolução do comprimento do dia de Viçosa encontram-se, respectivamente, no Quadro 2 e na Figura 1.

As variáveis altura, número de folhas, área da folha maior, da folha com dimensões médias e área foliar total de cada planta, cuja determinação não requeria colheita da planta ou de parte dela, foram analisadas em sete épocas de colheita (0, 30, 45, 60, 75, 90 e 105 dias). As demais variáveis (massa fresca e seca, teor de clorofila, de açúcares e de partenólídeo) tiveram seis épocas de colheita (30, 45, 60, 75, 90 e 105 dias).

O experimento foi instalado segundo esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os níveis de luminosidade (0%, 30% e 50% de sombreamento), e nas subparcelas as épocas de colheita (30, 45, 60, 75, 90 e 105 dias após início do experimento), no delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições. A unidade experimental constituiu-se de um vaso de

dez litros, com uma planta. Cada parcela foi constituída por 24 vasos, e cada subparcela constou de 12 vasos, distribuídos em 4 blocos, perfazendo, assim, 72 vasos, no total.

Quadro 2. Médias mensais dos dados meteorológicos de Viçosa, MG, referentes ao período experimental

Dados Meteorológicos	Meses							
	Março	Abril	Mai	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro
Temp. média do ar (°C)	22,10	20,58	17,20	16,56	17,02	16,10	19,31	17,30
Temp. máxima do ar (°C)	28,52	27,76	25,35	24,54	24,38	25,91	27,06	25,03
Temp. mínima do ar (°C)	17,86	16,14	11,67	11,53	12,41	8,95	12,79	14,68
Umidade relativa média (%)	84,26	82,26	80,23	82,78	81,79	71,84	67,04	74,69
Velocidade média do vento (m/s)	1,46	0,98	1,15	0,89	0,96	0,91	1,73	1,43
Precipitação total (mm)	273,7	36,5	2,0	13,2	4,2	0,0	50,7	118
Evaporação média (mm)	2,55	2,48	3,09	2,70	2,62	4,02	5,19	3,8
Insolação média (h)	6,72	7,05	8,12	5,22	5,65	7,90	6,70	2,80

Fonte: Distrito Meteorológico de Viçosa (MG)

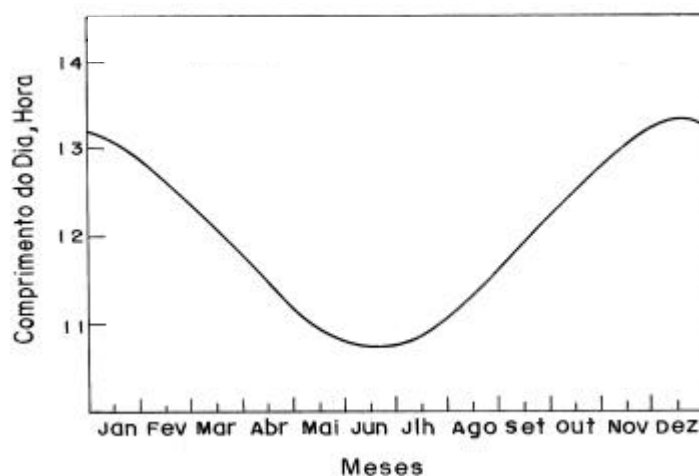


Figura 1. Evolução do comprimento do dia de Viçosa (MG).

Os dados obtidos foram analisados utilizando-se a técnica de superfície de resposta. Os modelos foram escolhidos, baseando-se na significância do teste t, ao nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação e no fenômeno em estudo.

2.4. Crescimento

O crescimento das plantas foi monitorado por meio de medições periódicas da altura, número de folhas, comprimento e largura da folha maior e da folha com dimensões médias, massa fresca e seca da parte aérea. As primeiras medições foram realizadas no dia em que implementou-se o regime de sombreamento, denominado de dia zero. A altura das plantas, o comprimento e a largura da folha maior e da média foram medidas, em cada época, por meio de régua milimetrada. O número de folhas em cada planta, incluindo as folhas em início de expansão, com cerca de 3,0 cm de comprimento, e as folhas em início de senescência; ou seja antes da abscisão foram contados. Em cada época de colheita, estimou-se, ainda, a área da folha maior e da folha com dimensões médias.

Na determinação da área foliar foi utilizado procedimento similar ao adotado por FIGUEIREDO (1998), em plantas de *T. parthenium*. Determinou-se o comprimento e maior largura das lâminas foliares maior e de dimensão média, por meio de régua milimetrada, e a área destas mesmas lâminas por meio do medidor de área foliar portátil Licor, modelo 3000. Esse mesmo procedimento foi repetido por mais três vezes com plantas em outros estádios de desenvolvimento. Esses dados foram, então, submetidos a análise de regressão múltipla visando estimar a equação que mais se ajustava aos dados: $Y = 4,46065 + 1,15393C - 0,0241692C^2 - 5,03714L + 0,701271L^2 + 0,192815CL$, cujo coeficiente de determinação foi $r^2 = 0,9169$. Posteriormente, em cada época de colheita, foi possível estimar a área das folhas maior e de dimensão média sem retirá-las das plantas, procedendo-se apenas medidas de comprimento (C) e largura (L) máximas dessas lâminas foliares, por meio da equação obtida anteriormente. A área foliar total foi, em seguida, estimada pelo produto da área foliar média de cada planta pelo número de folhas.

As épocas de colheita foram determinadas com base nos resultados de HENDRIKS et al. (1997) e de FIGUEIREDO (1998) com plantas de *T.*

parthenium. As colheitas da parte aérea das plantas foram realizadas manualmente, cortando-se o caule rente ao solo com tesoura de poda, sempre no horário compreendido entre 17:00 e 18:00 horas. A massa fresca e seca da parte aérea foi determinada em balança semi analítica a partir de 30 dias após início do experimento. As plantas coletadas, em cada época, foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e levadas à sala de secagem do Grupo Entre Folhas (UFV, Viçosa), onde permaneceram espalhadas em bandejas, a temperatura ambiente e umidade controlada em 50%, por meio de desumidificador. Após cerca de vinte dias determinou-se a massa dessas plantas, que foi denominada de massa seca da parte aérea. Posteriormente, as plantas foram embaladas em sacos de polipropileno e armazenadas em "freezer" a - 40 °C, com o fim de preservar o princípio ativo de possíveis contaminações fúngicas, até sua utilização na extração de partenólídeo, aproximadamente cinco meses depois.

2.5. Avaliação do Metabolismo Primário

Em todas as épocas, estimou-se a massa fresca e seca da parte aérea, teor relativo de clorofila, de açúcares solúveis totais, redutores, não redutores e de amido nas folhas do terço superior das plantas.

As amostras foliares destinadas à extração e determinação do teor de açúcares solúveis e de amido, obtidas nas folhas expandidas do 2° e 3° nó a partir do ápice, foram, logo que coletadas, congeladas com nitrogênio líquido, acondicionadas em sacos de polipropileno e armazenadas em "freezer" a - 40 °C até sua utilização. O extrato destinado a determinação de açúcares solúveis totais e de açúcares redutores foi obtido da maceração de 300 mg de folhas, em almofariz e pistilo, utilizando-se etanol aquoso 80% v/v, fervente. O macerado obtido foi centrifugado a 3000 g, durante 10 minutos, sendo o precipitado ressuspendido e centrifugado por mais duas vezes. O volume final foi ajustado em 25 mL, com etanol aquoso 80% v/v. Desse extrato etanólico, uma alíquota de 10 mL foi colocada em funil de separação com igual volume de clorofórmio. Após agitação e cinco minutos de repouso, a fase aquosa foi coletada, e a fase clorofórmica foi submetida a lavagens sucessivas com 1 mL de água destilada, sendo estas fases aquosas combinadas com a anterior. O

extrato aquoso combinado foi evaporado em evaporador rotativo à vácuo, a 45°C. Após a evaporação, o resíduo foi ressuspensionado em 3 mL de água destilada e reservado para posterior determinação do teor de amido.

A determinação do teor de açúcares solúveis totais foi, então, realizada, com alíquotas desse extrato e reação com antrona (HODGE e HODFREITER, 1962, GOMES, 2000). O teor de açúcares redutores foi determinado conforme metodologia descrita por NELSON (1944) e adaptada por SOMOGY (1952) e o teor de açúcares não redutores foi estimado por meio da diferença entre o teor de açúcares solúveis totais e de açúcares solúveis redutores.

Na extração de amido foi utilizado o resíduo proveniente da extração de açúcares solúveis totais, ressuspensionado em 5,75 mL de ácido perclórico a 30% e mantido em repouso por 30 minutos, com agitações ocasionais. A suspensão foi, então, centrifugada a 3000 g durante dez minutos. Esse procedimento foi repetido por mais duas vezes, sendo o precipitado descartado e os sobrenadantes combinados. O volume final foi ajustado, com água destilada, em 50 mL. A determinação do teor de amido foi feita em alíquota do extrato, por meio da reação com antrona (McCREADY et al., 1950, citado por GOMES, 2000).

2.6. Extração e Determinação de Partenólídeo

A extração do partenólídeo, feita com a parte aérea das plantas (folhas, botões florais e inflorescências, sem os ramos mais espessos), foi realizada de acordo com método descrito por BROWN et al. (1997; 1999), com adaptações. Hastes ou ramos mais espessos das plantas foram removidos a fim de facilitar a moagem, e folhas e inflorescências foram moídas em moinho mecânico e utilizadas na extração de partenólídeo. Amostras de 200 mg da parte aérea das plantas foram homogeneizadas em 16 mL de clorofórmio e em seguida, submetidas a "banho maria", com ultrassom, por 15 minutos. Posteriormente, esse extrato foi filtrado em funil de vidro com papel filtro Whatmann nº 1. O filtrado foi, então, levado ao evaporador rotativo a 38 °C, visando eliminação completa do solvente. Após pesagem do resíduo sólido, este foi ressuspensionado em clorofórmio e acondicionado em frascos com tampa rosqueável, onde foi deixado por cerca de 12 a 15 horas, à temperatura ambiente, até completa evaporação do solvente. As condições de determinação do teor de

partenólídeo em cada amostra foram similares às descritas por HENDRIKS et al. (1997).

Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa, utilizando-se aparelho Shimadzu, modelo GC - 17A, equipado com detector de ionização de chama, acoplado a registrador e integrador C-R6A Cromatopac. A coluna utilizada foi a capilar SBP-5 (Supelco), com 30 cm de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno, e filme com espessura de 0,25 µm. O gás carreador foi o nitrogênio. As temperaturas utilizadas no injetor (270 °C) e no detector (300 °C) foram definidas durante os testes preliminares. A temperatura da coluna durante a extração aumentou de 220 a 250 °C, com isoterma de dez minutos em 250 °C.

As amostras do extrato foram precisamente pesadas (cerca de 10 mg) e diluídas em 10 mL de clorofórmio, sendo injetado 1 µL do extrato no cromatógrafo. Essas alíquotas (1 µL) do extrato total foram analisadas para a quantificação do teor de partenólídeo, por referência com curva padrão. Esta foi construída utilizando-se dados de injeções de 50 a 250 ppm do padrão comercial de partenólídeo, dissolvido em clorofórmio.

O teor de partenólídeo nas amostras foi expresso de duas formas: (1) teor de partenólídeo por planta individual, em relação a massa seca da parte aérea (em miligrama) e (2) teor de partenólídeo em 100 gramas de massa seca (porcentagem).

2.7. Estudo anatômico

Durante as colheitas da parte aérea das plantas retirou-se seções foliares, com aproximadamente 5 mm, de cada planta, para a montagem de lâminas permanentes com cortes transversais e seções foliares com cerca de 1 cm² destinadas a diafanização.

As seções foliares menores foram feitas, procurando-se evitar a região das nervuras, a partir das folhas expandidas do segundo ou terceiro par a partir do ápice. Imediatamente após a seção das folhas, as amostras foram fixadas em solução de formol - ácido acético - etanol aquoso 50% v/v, (FAA) 50% v/v na proporção 1:1:9 v/v, submetidas à vácuo a fim de facilitar a infiltração do fixador (JOHANSEN, 1940). Após 24 horas, a solução de FAA foi retirada, as

amostras foram lavadas e iniciou-se, no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, a etapa de desidratação etílica progressiva a partir da solução aquosa de etanol 70% v/v. Na etapa seguinte, as amostras foram submetidas à inclusão em historresina (Technovit 100, da Khulzer). As seções foliares foram, então, colocadas primeiro numa mistura de etanol 95% v/v e resina (solução de infiltração Technovit 100, da Khulzer), onde permaneceu por quatro horas. Em seguida foram colocadas em solução de infiltração pura por 24 horas, e finalmente em solução de inclusão (15 mL da solução de infiltração e 1 mL do endurecedor, Technovit 100, da Khulzer). Posteriormente essas amostras foram emblocadas em moldes plásticos e colocadas em estufa a 50 °C até ocorrer a polimerização da mistura. Nos blocos, assim obtidos, foram feitos cortes transversais de 7 µm de espessura por meio de micrótopo rotativo (LEICA, 2045, da Multicult), os quais foram distendidos em lâminas de vidro. Em seguida, os cortes, foram coloridos com azul de toluidina, e montados entre lâmina e lamínula com bálsamo do Canadá (BERLYN e MIKSCHE, 1976).

Nessas lâminas foram feitas medições da espessura da lâmina foliar, das epidermes, do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso e das células epidérmicas, com o auxílio de ocular de tambor micrométrico em dez campos microscópicos de cada amostra em estudo. A observação e documentação foram feitas em fotomicroscópio Olympus, modelo AX70, equipado com sistema fotográfico U-photo, no Laboratório de Anatomia vegetal.

As amostras foliares destinadas a diafanização foram fixadas em solução aquosa de etanol 50% v/v, onde permaneceram por uma semana, quando foram submetidas a hidratação com soluções aquosas de etanol, a partir de etanol aquoso 50% v/v até água. Em seguida, foram colocadas primeiro em solução de hidróxido de sódio (NaOH) 10% v/v, por cerca de duas horas, depois em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 20% v/v, por cerca de três horas, e por último em solução de cloral hidratado (CCl₃CHO · H₂O) 10% v/v, por cerca de uma hora. Os segmentos, antes de serem colocados nessas soluções, foram lavados exaustivamente com água destilada, eliminando-se, assim, resíduos da solução anterior. Posteriormente, iniciou-se a desidratação com soluções aquosas de etanol, de etanol 30% v/v até etanol 50% v/v, quando foi

submetido a coloração com fucsina ácida e azul de Astra (JOHANSEN, 1940). Em seguida, continuou-se a desidratação com soluções aquosas de etanol, com etanol/água 90 e 100% v/v e soluções de etanol 100% com xilol, nas proporções de 3:1, 1:1 e 1:3, e com solução de xilol puro. Posteriormente, as seções foram, então, montadas em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá. Nas lâminas diafanizadas identificou-se os tricomas presentes e estimou-se a densidade de tricomas tectores e glandulares.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Crescimento

A redução na irradiância causou aumento na altura, na área foliar total de cada planta, na área da folha maior e da folha de dimensões médias das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função do tempo, em dias, após início do sombreamento (D). O número de folhas, ao contrário, não foi modificado devido ao nível de irradiância (Quadro 3).

As plantas crescidas a pleno sol atingiram cerca de 0,76 m, enquanto aquelas crescidas em menores níveis de irradiância tornaram-se mais altas. As plantas mantidas por 105 dias em ambiente com 30 ou 50% de sombreamento alcançaram, em média, respectivamente, 0,92 m e 1,06 m de altura, Figura 2 (a). Portanto, considerando-se as médias obtidas no nível de maior irradiância, pleno sol, como parâmetro, houve aumento em torno de 21 e 39%, respectivamente, na altura das plantas crescidas a 30 e 50% de sombreamento. O valor adaptativo disso é óbvio, uma vez que possibilita a essas plantas ocuparem o espaço acima das outras. Segundo MORELLI e RUBERTI (2000), apesar das respostas ao sombreamento serem diversas, o estímulo no crescimento em altura é das respostas mais características e rápidas do sombreamento.

Quadro 3- Equações ajustadas das variáveis altura, área foliar total de cada planta, número de folhas, área da folha maior e da folha de dimensões médias das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função do nível de irradiância (L) e do tempo, em dias, após início do experimento (D) e respectivos coeficientes de determinação (r^2)

Variável	Equação	r^2
Altura	$Y = 0,12139 - 0,00072^{ns}L + 0,00280^*D + 0,00003^{**}D^2 + 0,00007^{**}LD$	0,99
Área foliar total	$Y = -0,06568 + 0,00515^{**}L + 0,02960^{**}D - 0,00023^{**}D^2$	0,80
Número de folhas	$Y = 143$	—
Área da folha maior	$Y = 0,00613 - 0,00006^{ns}L + 0,000002^{**}L^2 + 0,00011^{**}D - 0,0000014^{**}D^2$	0,74
Área da folha c/ dimensões médias	$Y = 0,00218 - 0,000024^{ns}L + 0,000001^*L^2 + 0,00011^{**}D - 0,0000012^{**}D^2$	0,73

ns, * ou ** indicam, respectivamente, não significativo, significativo a 5% ou 1%, pelo teste t.

Essencialmente, as plantas são capazes de evitar ou tolerar o sombreamento. As plantas, que respondem ao sombreamento com maior crescimento em altura, são capazes de "evitar" as alterações mais prejudiciais devido ao sombreamento (TAIZ e ZEIGER, 1998; MORELLI e RUBERTI, 2000). Esse é o caso de *Salvia officinalis* e *Thymus vulgaris*, que segundo LI et al. (1996), à semelhança de *T. parthenium*, tiveram maior crescimento em altura com a redução no nível de irradiância incidente. *Plantago major*, ao contrário, teve menor crescimento em extensão, quando cresceu sombreado (SOUZA, 1998).

As variáveis área foliar total de cada planta, Figura 2 (b), área da folha maior, Figura 3 (a), e da folha de dimensões médias, Figura 3 (b), tiveram comportamento quadrático, em função dos dias após início do experimento. A área foliar total de cada planta, Figura 2 (b), foi maior nas plantas crescidas em menores níveis de irradiância. O valor máximo dessa variável ($1,14 \text{ m}^2$), estimado fixando-se o nível de irradiância, foi alcançado 64 dias após início do experimento, pelas plantas crescidas em 50% de sombreamento. Nesse mesmo dia, as plantas crescidas a 30% de sombreamento alcançaram $1,04 \text{ m}^2$

e as crescidas a pleno sol atingiram $0,89\text{m}^2$. Assim, admitindo-se as médias das plantas crescidas a pleno sol como parâmetro, as plantas crescidas com 50% de sombreamento tiveram, nesse dia, área foliar total 28% maior e altura 39% maior. Segundo NOBEL (1991), folhas sombreadas podem ter área superficial 20 a 80% maior do que folhas crescidas ao sol. A redução no nível de radiação incidente induziu, portanto, as plantas a investirem maior proporção dos seus recursos no crescimento em altura e em área foliar.

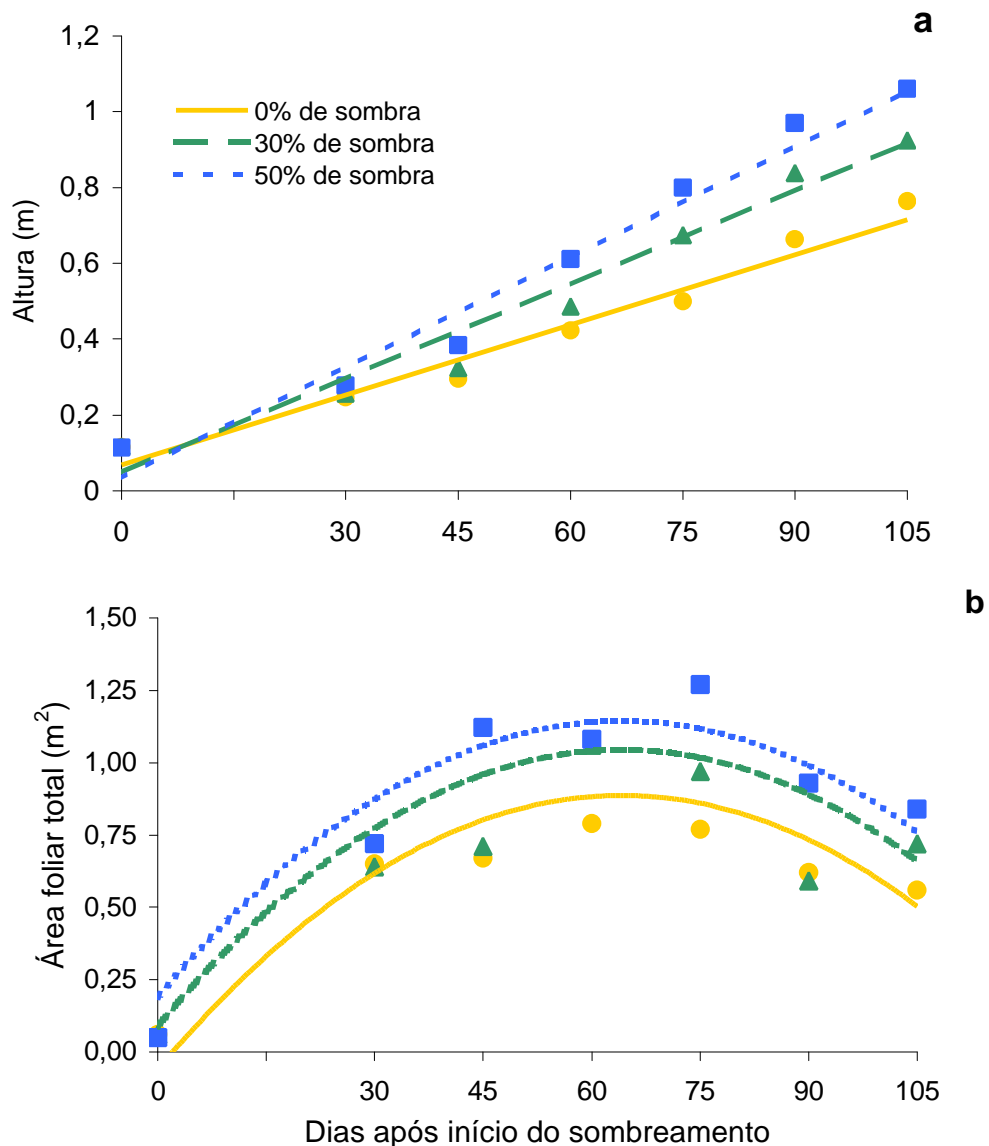


Figura 2- Estimativa da (a) altura e da (b) área foliar total por planta de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início do sombreamento, nas condições de pleno sol (●), 30% (▲) e 50% (■) de sombreamento.

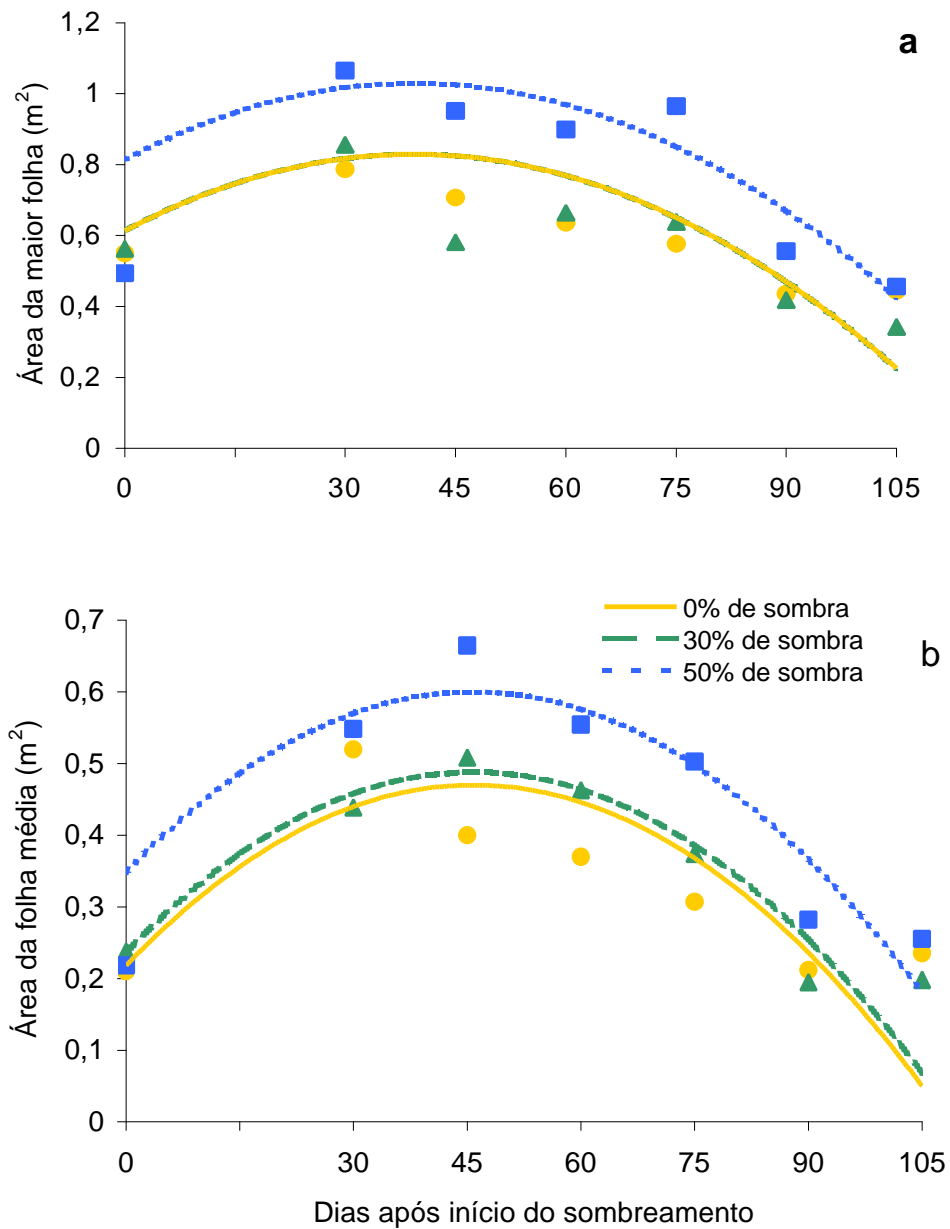


Figura 3 - Estimativa da (a) área da folha maior e (b) da área da folha de dimensões médias das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início do sombreamento, nas condições de pleno sol (●), 30% (▲) e 50% (■) de sombreamento.

Folhas de plantas de aveia crescidas em ambientes com alta luminosidade foram maiores do que folhas de plantas crescidas em ambientes com irradiância reduzida (KUBÍNOVÁ, 1991). Hughes (1959), citado por CUTTER (1987), verificou aumentos progressivos na área foliar de plantas de *Impatiens* com a diminuição da luz incidente. FRIEND e POMEROY (1970) verificaram aumento na área foliar de plantas de trigo crescidas em menores irradiâncias. Segundo eles, esse efeito pode decorrer tanto de aumento na expansão celular, quanto de aumento no número de divisões celulares ao longo da lâmina foliar. SOUZA (1998), no entanto, obteve plantas de *Plantago major* com maior área foliar total em ambiente com 100% de luminosidade (em média diária de $306 \mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Segundo CUTTER (1987), folhas de sombra caracteristicamente têm maior área de limbo e são menos espessas.

Considerando-se que a parte da planta com maior concentração de partenólídeo e mais utilizada com fins terapêuticos é a folha (HENDRIKS et al., 1997), é extremamente interessante obter plantas com maior área foliar. A redução na área foliar total das plantas, verificada nas últimas épocas de colheita, provavelmente ocorreu tanto devido a perda das folhas senescentes (folhas mais basais), quanto devido a redução nas dimensões das folhas. Isto porque a metodologia de área foliar total por planta adotada considerou não apenas o número de folhas em cada planta mas também a dimensão.

Como a variável área foliar total por planta, as variáveis área das folhas maior e com dimensão média tiveram comportamento quadrático (Quadro 3). As médias das variáveis área da folha maior, Figura 3 (a), e da folha de dimensões médias, Figura 3 (b), também foram maiores nas plantas crescidas sob irradiância reduzida. Verifica-se que a área foliar total por planta correlaciona-se positivamente tanto com a área da folha maior, quanto com a área da folha com dimensões médias; sendo que apenas esta última correlação é estatisticamente significativa (Quadro 4). Assim, provavelmente as alterações na área foliar total por planta devem-se, principalmente, a variações na dimensão das folhas.

Quadro 4. Estimativa do coeficiente de correlação simples das variáveis altura (H), número de folhas (NF), área foliar total (AF), área da folha maior (AF₁) e da folha com dimensões médias (AF₂) da parte aérea de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início do experimento, nas condições de pleno sol (0%), 30% e 50% de sombreamento

Nível de sombreamento	Variáveis	Variáveis				
		H	NF	AF	AF ₁	AF ₂
0%	H	1,0000	0,8110**	0,4446*	-0,3918*	-0,2358 ^{ns}
	NF		1,0000	0,4488**	-0,2955 ^{ns}	-0,0857 ^{ns}
	AF			1,0000	0,3175 ^{ns}	0,6487**
30%	H	1,0000	0,6776**	0,7728**	0,6633**	0,6999**
	NF		1,0000	0,5292**	0,7056**	0,7196**
	AF			1,0000	0,5700**	0,7028**
50%	H	1,0000	0,7239**	-0,5344 ^{ns}	-0,2704 ^{ns}	-0,0517 ^{ns}
	NF		1,0000	-0,7774**	-0,2879 ^{ns}	-0,2026 ^{ns}
	AF			1,0000	0,2484 ^{ns}	0,1766 ^{ns}

*, ** e ns representam significativo a 5% ou 1%, e não significativo pelo teste t.

3.2. Metabolismo Primário

A redução na irradiância luminosa incidente nas plantas de *T. parthenium*, por meio de sombreamento, não alterou significativamente o acúmulo de massa fresca e seca (Quadro 5), apesar de ter causado aumento significativo na altura e na área foliar total de cada planta. SOUZA (1998) e MARENCO e REIS (1998), no entanto, verificaram redução no acúmulo de massa seca em função do nível de irradiância, respectivamente em plantas de *Plantago major* e *Ischaemum rugosum*.

Segundo TEI et al. (1996), o acúmulo de massa seca resulta da radiação fotossinteticamente ativa absorvida pelas folhas, da eficiência média de conversão da radiação absorvida em massa seca e da partição desta entre as partes coletoras de luz e o restante da planta. Portanto, o sombreamento das plantas de *T. parthenium*, e conseqüente redução nos níveis de radiação fotossinteticamente ativa, não foi suficiente para diminuir significativamente o acúmulo de massa seca. Possíveis reduções na espessura das lâminas foliares (variável não determinada), e insuficiente aumento na área foliar podem ter

contribuído para a ausência de efeito significativo do sombreamento sobre o acúmulo de massa seca. Outra possibilidade é ter havido aumento na eficiência média de conversão da radiação em massa seca nas plantas crescidas em menores irradiâncias, mascarando, assim, os efeitos da redução na irradiância. Isso pode ter ocorrido, por exemplo, devido a alterações no aparato fotossintético ou a rearranjos dos cloroplastos nas folhas.

Quadro 5- Equações ajustadas das variáveis massa fresca, e seca da parte aérea, teor de açúcares solúveis totais, de açúcares redutores, de açúcares não redutores, de amido e teor relativo de clorofila, em função do nível de irradiância (L) e do tempo, em dias, após início do experimento (D) e respectivos coeficientes de determinação (r^2)

Variáveis	Equação	r^2
Massa fresca	$Y = 172,52$	-
Massa seca	$Y = 47,00$	-
Açúcares totais	$Y = -12,5970 - 2,5518^{**} L + 0,031033^{**} L^2 + 4,32026^{**} D - 0,02956^{**} D^2$	0,69
Açúcares redutores	$Y = 55,5000 - 0,1292^{**} L - 0,3714^{**} D$	0,78
Açúcares não redutores	$Y = -69,6321 - 2,5273^{**} L + 0,03214^{**} L^2 + 4,8385^{**} D - 0,03072^{**} D^2$	0,71
Amido	$Y = -78,3600 - 0,8614^{**} L + 0,0143^{**} L^2 + 3,6220^{**} D - 0,02315^{**} D^2$	0,78
Clorofila	$Y = 44,5703 + 0,024487^{ns} L - 0,002025^{*} L^2 - 0,298877^{**} D + 0,00185846^{**} D^2 + 0,00355^{**} LD$	0,76
Partenolídeo (%)	$Y = 2,02622 - 0,0193783^{**} L - 0,0128810^{**} D + 0,000247597^{**} LD$	0,23
Partenolídeo por planta	$Y = 461,4$	-

ns, * ou ** indicam, respectivamente, não significativo, significativo a 5% ou 1%, pelo teste t.

Além disso as plantas utilizadas na determinação da massa seca foram as mesmas utilizadas na extração e determinação de partenolídeo. Como até o momento das colheitas não se sabia com certeza se a secagem em estufa a 60 ou 70 °C poderia afetar esse princípio ativo, uma vez que a literatura a esse

respeito é confusa (BROWN et al., 1997; 1999; HENDRIKS et al., 1997), as plantas foram apenas desidratadas (a temperatura ambiente e umidade controlada em 50%). Assim, é provável que um pouco de água tenha permanecido nos tecidos vegetais.

Apesar da massa seca não ter sido alterada significativamente pela redução da luminosidade incidente nas plantas, verificou-se diminuição no teor de açúcares nas folhas (Figuras 4 a 6). Decréscimos na irradiância propiciam, segundo KASPERBAUER (1994) e DUBEY e PESSARAKLI (1995), menor taxa fotossintética. Portanto, a redução nos teores de açúcares solúveis e de amido, decorrente da redução na irradiância, provavelmente indica a ocorrência de alterações no processo fotossintético ou na relação fonte /dreno.

Essas alterações no processo fotossintético, segundo MURCHIE e HORTON (1997), podem ser devidas apenas a modificações nos processos de controle do nível de excitação da membrana fotossintética e das atividades das enzimas de assimilação de carbono e de minerais inorgânicos, ou mesmo a alterações no próprio aparato fotossintético. Os cloroplastos, por exemplo, migram, nessas situações, para sítios de melhor iluminação, o que permite maximizar a absorção de luz e a produção de taxas fotossintéticas máximas (KAGAWA e WADA, 1999).

Os teores de açúcares solúveis totais, de açúcares solúveis não redutores e de amido tiveram comportamento quadrático, Quadro 5, e tenderam a ser maiores nas plantas crescidas a pleno sol. Segundo KHANNA-CHOPRA (2000), a produção de massa seca é determinada pelo total de radiação fotossinteticamente ativa interceptada pelas folhas e pela eficiência com que a energia é convertida em massa seca. Portanto, maior teor de fotoassimilados era esperado nas plantas crescidas a pleno sol.

Fixando-se o nível de irradiância, verificou-se maior teor de açúcares solúveis totais, (145,3 mg de açúcar /grama de massa fresca, 73 dias após início do experimento nas plantas a pleno sol. Nesse mesmo dia, as plantas crescidas em e 30% (96,6 mg de açúcar / grama de massa fresca) e 50% (95,2 mg de açúcar /grama de massa fresca) de sombreamento tiveram teores menores, Figura 4.

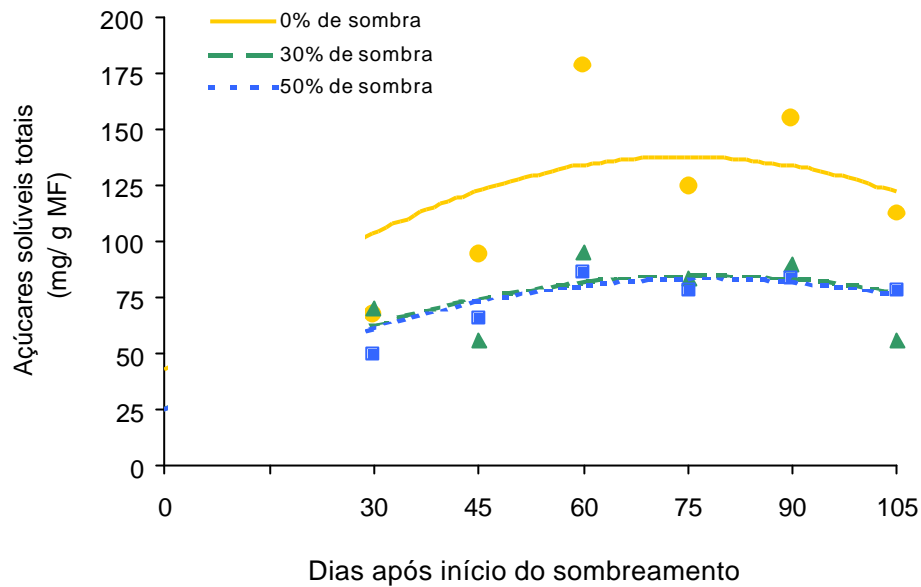


Figura 4. Estimativa do teor de açúcares solúveis totais, em miligrama por grama de massa fresca (mg/ g MF) nas folhas expandidas do 2° e 3° nós das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início do experimento, nas condições de pleno sol (●, 0% de sombra), 30% (σ) e 50% de sombreamento (■).

O teor de açúcares redutores, monossacarídeos simples como a glicose, Figura 5 (a), diminuiu linearmente com o tempo em dias após início do sombreamento. O maior teor de açúcares redutores ocorreu nas plantas crescidas a pleno sol, e o menor nas plantas crescidas em 50% de sombreamento. O teor de açúcares não redutores, como a sacarose, principal forma transportável de açúcar, Figura 5 (b), aumentou. Fixando-se o nível de sombreamento, verifica-se que o teor máximo de açúcares não redutores, Figura 5 (b), ocorreu 79 dias após início do experimento, nas plantas a pleno sol (120,9 mg /g de massa fresca). Nas plantas crescidas em 30% (74,0 mg /g de massa fresca) e 50% (74,9 mg /g de massa fresca) de sombreamento houve menor teor de açúcares não redutores. A redução no teor de açúcares pelo sombreamento das plantas deveu-se mais a reduções no acúmulo de açúcares não redutores (em torno de 38%), do que a reduções no acúmulo de açúcares redutores (em torno de 3%). Portanto, provavelmente, o sombreamento prejudicou mais a partição de fotoassimilados do que a capacidade fotossintética dessas folhas.

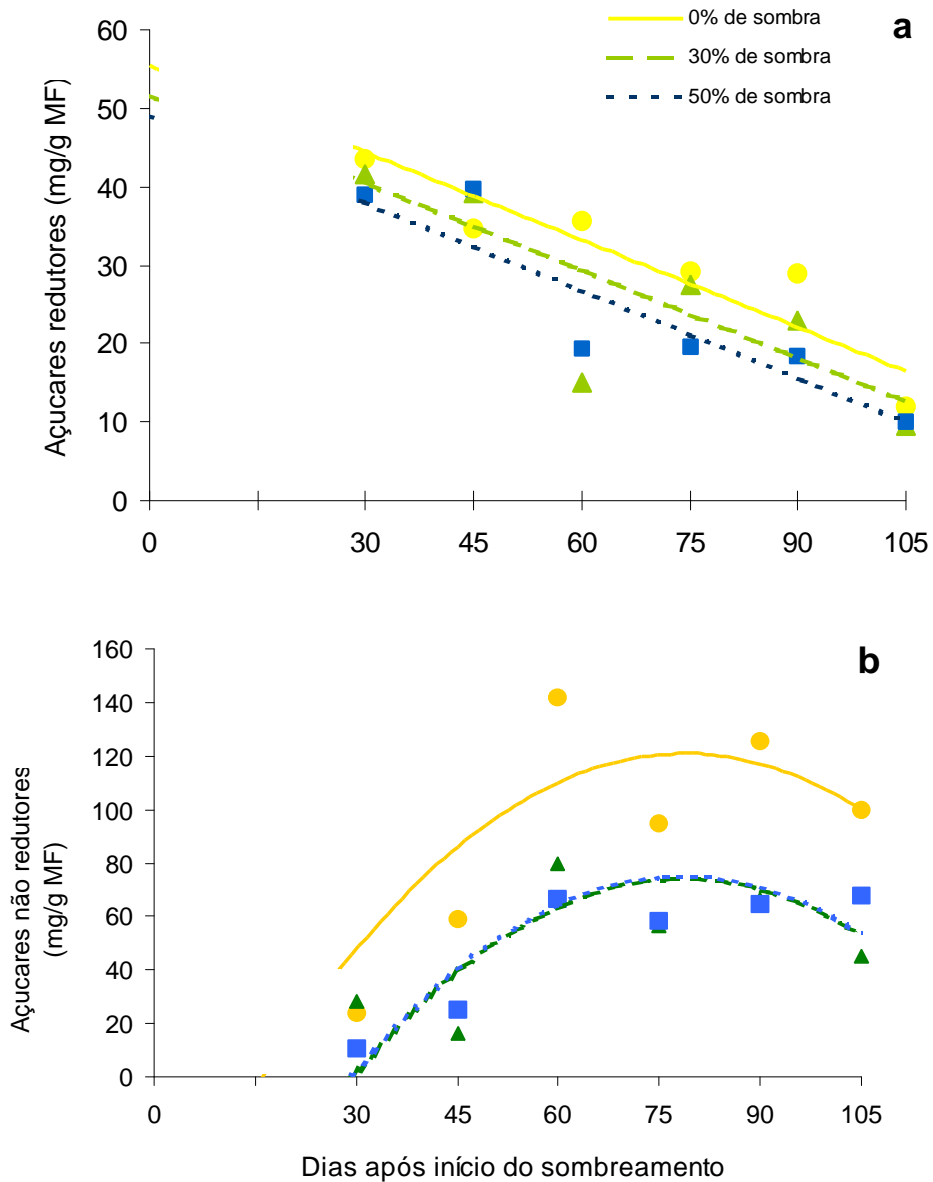


Figura 5. Estimativa do (a) teor de açúcares redutores e (b) de açúcares não redutores nas folhas das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início do sombreamento, nas condições de pleno sol (●), 30% (▲) e 50% (■) de sombreamento.

O teor de amido, Figura 6, também foi máximo nas plantas a pleno sol, cerca de 78 dias após início do experimento, quando as plantas a pleno sol continham cerca de 63,3 mg / g de massa fresca, e as plantas crescidas em menores irradiâncias, 30% ou 50% de sombreamento, continham, respectivamente 50,3 mg / g de massa fresca e 56 mg / g de massa fresca.

O sombreamento alterou o teor de açúcares totais nas folhas de *T. parthenium*, e provavelmente afetou a relação fonte-dreno da planta, uma vez que o crescimento em altura foi favorecido, mas o desenvolvimento dos botões florais não o foi. Segundo SMITH e WHITELAM (1997), há marcante redirecionamento do fluxo de fotoassimilados, dos órgãos fonte e dos sítios de armazenamento em direção ao crescimento em altura, nas plantas capazes de evitar a sombra, o que parece ter acontecido nessas plantas. Tanto a síntese de sacarose e de amido, quanto a alocação de carbono dentro da planta tem padrões distintos, que são completamente reproduzíveis em condições ambientais constantes, mas podem mudar rapidamente se essas condições são alteradas (DICKSON, 1991).

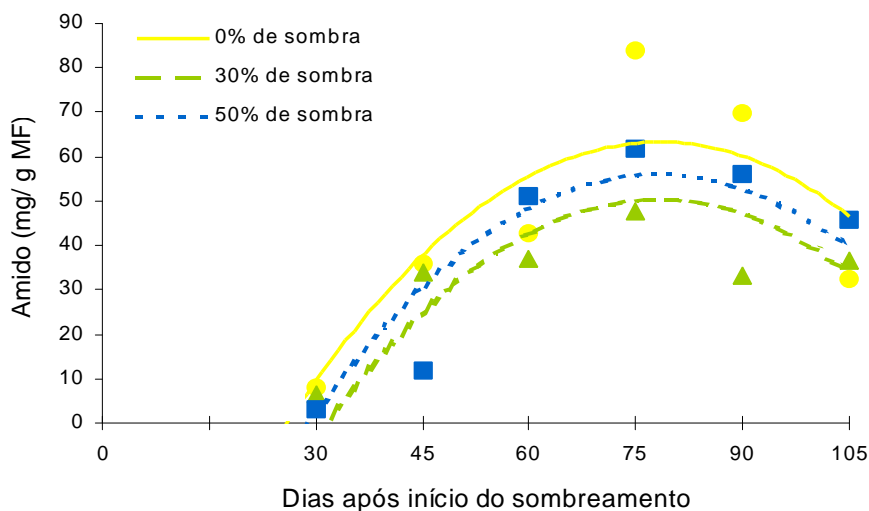


Figura 6. Estimativa do teor de amido, em miligrama por grama de massa fresca (MF) nas folhas expandidas do 2º e 3º nós das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início do sombreamento, nas condições de pleno sol (●), 30% (▲) e 50% (■) de sombreamento.

MARENCO e REIS (1998) determinaram o teor de açúcares em órgãos de *Ischaemum rugosum*, importante invasora do arroz irrigado, cultivada em ambiente sombreado, e verificaram alteração na relação fonte-dreno da planta. Nas condições de irradiância mais altas, segundo esses autores, as raízes foram os drenos preferenciais, mas com altos níveis de sombreamento, as folhas foram os drenos preferenciais.

O sombreamento causou atraso na emissão de botão floral nas plantas de *T. parthenium*, sendo maior nas plantas crescidas em 50% de sombreamento (Quadro 6). As plantas mantidas em pleno sol foram as primeiras a florir, assim como foram as com maior área foliar total por planta. A floração em *Tropaelum majus*, similarmente, ocorreu, primeiro nas plantas crescidas a pleno sol (CASTELLANI, 1997).

Os primeiros botões florais (Quadro 6) apareceram 64 a 68 dias após início do experimento, quando a área foliar total máxima, Figura 2 (b), foi verificada nas plantas crescidas a 50% de sombreamento. Esses dados, junto com os dados referentes ao acúmulo de açúcares fotoassimilados corroboram a possibilidade de ter ocorrido alteração na relação fonte/dreno.

Quadro 6. Tempo médio, em dias após início do experimento, de emissão de botões florais (TM), e número médio de inflorescências por planta (NI) na última época de colheita das plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas nas condições de pleno sol (0%), 30% e 50% de sombreamento

Nível de sombreamento	TM	NI
0%	64	83,5
30%	67	82,3
50%	68	61,5

A emissão dos botões florais nas plantas crescidas a pleno sol (Quadro 6) ocorreu 64 dias após início do experimento, concomitante, portanto, com a redução na área foliar total de cada planta, Figura 2 (b). Os botões florais surgiram primeiro nas plantas crescidas a pleno sol, que na última época de colheita foram as plantas com maior número de inflorescências. Isso e a

tendência a decréscimo nos níveis de açúcares redutores, Figura 5 (a), pode ser explicado em função de provável alteração na relação fonte-dreno, e portanto, na alocação de carbono.

O teor de clorofila foi estimado no intuito de avaliar indiretamente possíveis efeitos no desenvolvimento das plantas, uma vez que a perda de clorofila é sintoma característico da senescência. Nas plantas crescidas a pleno sol, 0% de sombreamento, houve redução de 14% no teor relativo de clorofila, Figura 7, em função do tempo, em dias após início do experimento: de 37,3 números de SPAD para 32.

O teor relativo de clorofila, estimado em números de SPAD, foi máximo aos 52 dias após início do experimento nas plantas crescidas em 50% de sombreamento. Fixando-se o nível de irradiância, verificou-se, aos 52 dias, 39,25 SPAD nessas plantas, 38,45 SPAD nas plantas crescidas a 30% de sombreamento e 34,05 SPAD nas plantas crescidas a pleno sol. Portanto, o sombreamento causou aumento no teor relativo de clorofila: 11% e 33%, respectivamente nas plantas crescidas em 30 ou 50% de sombreamento. Esse aumento no teor relativo de clorofila nas plantas crescidas sombreadas é decorrente, provavelmente, de modificações no processo fotossintético e de rearranjos no posicionamento dos cloroplastos que permitiriam maior captação de fótons. Segundo KAGAWA e WADA (1999), os cloroplastos tendem a migrar para sítios melhor iluminados nas folhas, posicionando-se de modo a otimizar a absorção de luz e gerar taxas de fotossíntese máximas. Todas essas alterações são utilizadas pelas plantas como meio de otimizar suas taxas fotossintéticas.

Considerando-se a redução no teor relativo de clorofila como sintoma característico da senescência foliar, segundo RAO e KHAN (1983), o aumento no teor relativo de clorofila nas plantas de *T. parthenium* crescidas sombreadas pode significar atraso no processo de senescência. De fato, segundo os mesmos autores, a senescência segue padrões característicos de decomposição e metabolismo, que são modulados por fatores internos e ambientais.

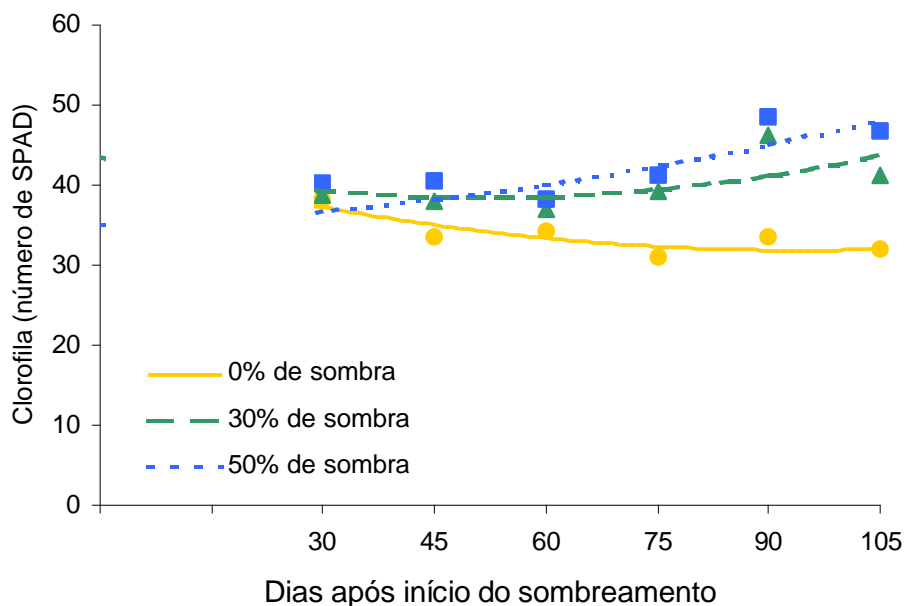


Figura 7. Estimativa do teor de clorofila, em números de SPAD, nas folhas expandidas do 2º e 3º nós das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início do sombreamento, nas condições de pleno sol (●), 30% (▲) e 50% (■) de sombreamento.

3.3 Densidade de Tricomas

A epiderme unisseriada das plantas de *T. parthenium* é revestida em ambas as faces por tricomas tectores, ou de proteção, e por tricomas secretores ou glandulares. A redução na irradiância não afetou significativamente a densidade de tricomas (Apêndice) nas folhas dessas plantas no período acompanhado.

O número de tricomas, segundo alguns autores, como CROTEAU et al. (1981), aumenta durante todos os estádios do desenvolvimento, WERKER et al. (1993) e ASCENSÃO et. al. (1998), no entanto, têm, ao contrário, concluído que o número final de tricomas nas folhas é estabelecido ainda na fase de diferenciação, estágio inicial do desenvolvimento das folhas, cessando durante o processo de expansão foliar. Segundo WERKER et. al. (1993) desde de que

algumas zonas meristemáticas permaneçam, localizadamente, nas folhas em crescimento intenso, tricomas glandulares novos em várias fases de desenvolvimento podem ser observados juntos nas folhas. Mais tarde com a expansão das células da folha em desenvolvimento, novos tricomas glandulares não são produzidos, e aqueles já existentes tornam-se mais distantes um dos outros, diminuindo, assim, a densidade de tricomas nas folhas. Como o número de tricomas não é afetado por fatores ambientais, provavelmente a variação na área foliar não foi suficiente para afetar significativamente a densidade de tricomas.

3.4. Metabolismo Secundário

O teor de partenólídeo por planta individual, similarmente ao acúmulo de massa seca, não variou significativamente em função dos níveis de irradiância (Apêndice). No entanto, aos 30 dias de experimento, verificou-se queda de 41% e 68%, respectivamente, no teor de partenólídeo por planta crescida a 30% ou 50% de sombreamento com a redução no nível de irradiância, Figura 8. A maior exposição à luz solar pode, dentro de certos limites, implicar em aumento da temperatura e fotossíntese, aumentando a produção de metabólitos primários e secundários (TAIZ e ZEIGER, 1998)

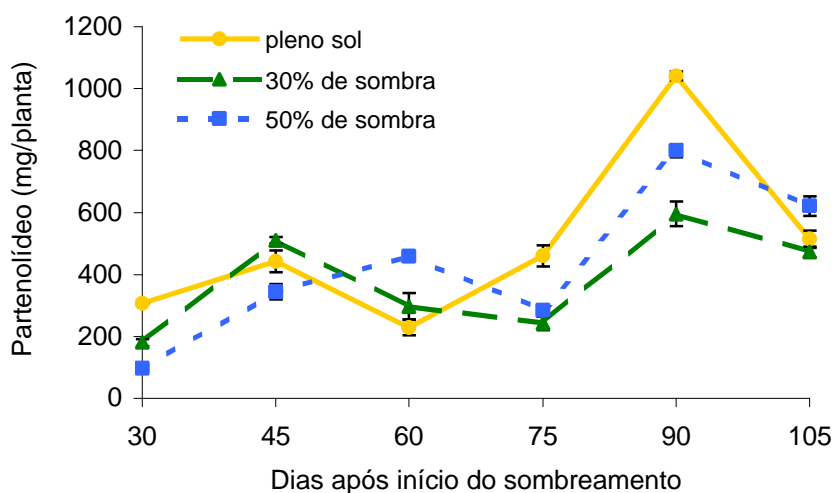


Figura 8. Estimativa do teor de partenólídeo, em miligramas por planta de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início do sombreamento, nas condições de pleno sol (●), 30% (▲) e 50% (■) de sombreamento.

O teor máximo de partenólídeo por planta ocorreu nas plantas crescidas a pleno sol, cerca de 90 dias após o início do experimento, Figura 8. Aos 90 dias, o teor de partenólídeo foi, respectivamente, 50% e 15% menor nas plantas crescidas a 30% e 50% de sombreamento. Chambá (*Justicia pectoralis*), similarmente, teve maior produção de cumarinas quando cresceu em ambiente com alta irradiância (BARROS, 1992, citado por CASTELLANI, 1997).

Analisando-se os efeitos do sombreamento na porcentagem de partenólídeo, em relação a massa seca, verificou-se nas plantas sombreadas, Figura 9, menor variação no teor de partenólídeo durante o crescimento das plantas de *T. parthenium*. A análise da declividade das linhas de tendência, Figura 9, indica que enquanto o teor de partenólídeo nas plantas a pleno sol diminui a cada dia em 0,0129%, nas plantas a 30 e 50% de sombreamento essa redução é de, respectivamente, 0,0054% e 0,0005%.

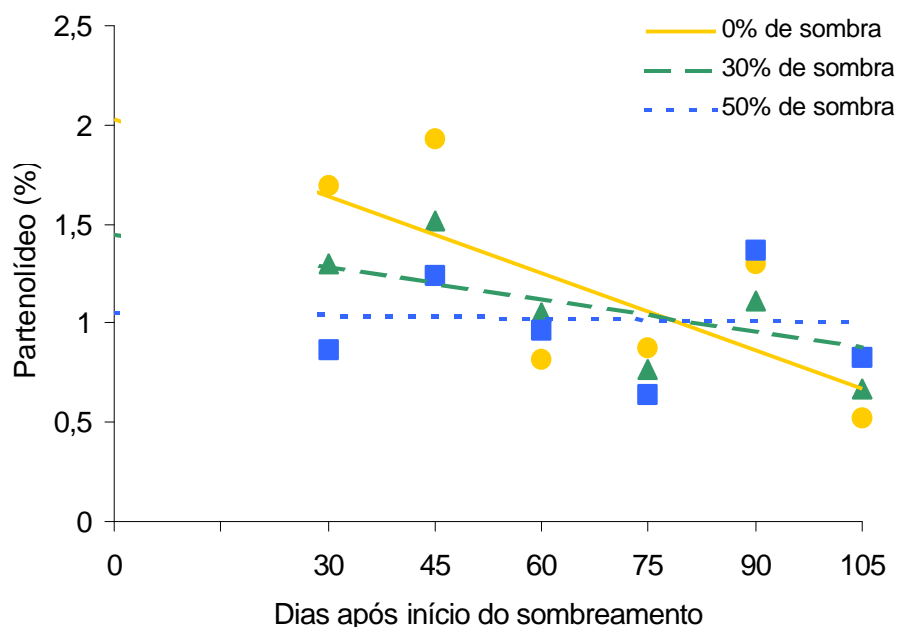


Figura 9. Estimativa do conteúdo de partenólídeo, em porcentagem de peso da matéria seca na parte aérea de plantas de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início do sombreamento, nas condições de pleno sol (●), 30% (▲) e 50% (■) de sombreamento.

Segundo HENDRIKS et al. (1997) e BROWN et al. (1996), o teor máximo de partenólídeo encontrado nas plantas de *T. parthenium* é em torno de 1,72%, em relação a massa seca da parte aérea. No entanto, verificamos que nas plantas crescidas a pleno sol o teor de partenólídeo no início do desenvolvimento chegou a ser pouco maior (2,02%), decrescendo bastante com o tempo em dias. Em plantas crescidas sombreadas o teor máximo de partenólídeo foi menor, 1,5% da massa seca.

O papel da luz na síntese de princípios ativos ainda não está bem definido. Os óleos essenciais tem sido alvo de grande interesse nos últimos anos. No entanto, há relativamente pouca informação na literatura referente ao comportamento das lactonas sesquiterpênicas, como o partenólídeo, em plantas crescidas em ambientes sombreados. A concentração de óleo em *Anethum graveolens*, *Mentha piperita*, *Matricaria recutita*, *Ocimum* sp. e *Thymus vulgaris*, por exemplo, aumenta com a irradiância (LI et al., 1996). Similarmente ao observado com as plantas de *T. parthenium* 30 dias após início do experimento, LI et al. (1996) obteve decréscimos no teor de óleo quando plantas de *Thymus vulgaris* cresceram sombreadas.

Concluindo, verificou-se que com a redução na irradiância houve aumento no crescimento, particularmente na altura das plantas e na área foliar. As folhas, órgãos mais utilizados com fins terapêuticos, além de maiores, tornaram-se mais verdes, provavelmente devido a aumento no teor relativo de clorofila ou a alteração na proporção clorofila *a*/ clorofila *b*. Apesar disso a redução na luminosidade incidente provavelmente causou redução no processo fotossintético e atraso no florescimento. O teor de partenólídeo decresceu com a redução da irradiância; sendo que nas plantas sombreadas a variação no teor de partenólídeo durante o crescimento das plantas foi menor. Essa menor variação é interessante em termos comerciais, uma vez que permite a obtenção de plantas com aproximadamente mesmo teor de partenólídeo durante todo o desenvolvimento.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Plantas de *Tanacetum parthenium*, obtidas de sementes, cresceram em vasos de 10 L, a pleno sol, ou sob 30 ou 50% de sombreamento, propiciado por telas de sombrite colocadas em armações de bambu a 1,5 metros acima dos vasos, por 105 dias. As plantas crescidas em menores níveis de luminosidade tiveram maior altura e área foliar total, enquanto a produção de folhas não foi alterada pela redução na irradiância.

Apesar do crescimento da parte aérea das plantas ter sido aumentado devido ao sombreamento, verificou-se atraso na emissão de botões florais, que foi maior nas plantas crescidas sombreadas. Esse atraso no florescimento acompanhou redução no teor de açúcares solúveis e de amido. O teor de partenólídeo por planta individual, também, foi menor nas plantas crescidas sob sombreamento. A porcentagem de partenólídeo tendeu a ser superior nas plantas crescidas a pleno sol, sendo maior antes da emissão dos primeiros botões florais. Após início do período de floração, a porcentagem de partenólídeo tendeu a ser maior nas plantas crescidas sombreadas.

CAPÍTULO 4

HOMEOPATIA EM ARTEMÍSIA

1. INTRODUÇÃO

A maioria das plantas superiores, nativas ou cultivadas, farmacologicamente ativas ou não, estão sujeitas a condições ambientais desfavoráveis, aos parasitas animais e vegetais e aos predadores. A maior susceptibilidade das plantas cultivadas aos parasitas pode ser atribuída a várias causas, entre as quais a acentuada simplificação dos sistemas agro-econômicos. Isto é devido, principalmente, a presença contemporânea, no mesmo solo, de plantas da mesma espécie. Em síntese é o enfraquecimento da resistência intrínseca (MICHELE, 1996; CARVALHO e CASALI, 1999).

Durante a evolução, as plantas, como organismos sésseis, têm desenvolvido sofisticado sistema de defesa, baseado em fatores físicos e químicos. Os mecanismos de defesa física mais evidentes, incluem revestimento com tricomas tectores ou glandulares, e a produção associada de secreções de vários tipos. As defesas químicas constituem-se de toxinas e substâncias repelentes de um ou mais tipos produzidas pelas próprias plantas (HARBONE, 1993; CARVALHO e CASALI, 1999). As plantas têm desenvolvido, assim, intrincado aparato de transdução de sinais, adaptando-as às variações do ambiente circundante (STAUB e DENG, 1996). Esses sinais, que podem ser comparados à linguagem dos animais, são específicos, e

envolvem, principalmente, metabólitos secundários, como os terpenóides, os alcalóides e os compostos fenólicos (PEÑUELAS et al., 1995).

A proteção dos cultivos de plantas medicinais não pode ser idêntica a empregada, tradicionalmente, nas produções agrícolas e de plantas ornamentais. Devido a toxicidade, a pulverização das folhas, flores e frutos destinados ao preparo de medicamentos e cosméticos, ou ainda utilizados complementarmente na dieta alimentar têm uso restrito. Nesse sentido, deve-se considerar, ainda, os possíveis efeitos tóxicos dos pesticidas nas abelhas e em outros insetos, reconhecidos como visitantes assíduos das espécies medicinais (MICHELE, 1996). Dificilmente, no entanto, encontra-se insumos e pesticidas registrados com uso específico no cultivo de plantas medicinais.

Oficializada como insumo na agropecuária orgânica (BRASIL, 1999), a homeopatia é coerente com a visão orgânica, holística, sistêmica e ecológica. É um sistema terapêutico natural que utiliza preparados, feitos especialmente para estimular o sistema imunológico dos organismos. Homeopatia é uma ciência cujos princípios fundamentais, que regem a cura, podem ser aplicados não só aos seres humanos, mas também aos animais e aos vegetais, podendo harmonizá-los num intervalo de tempo muito curto. A homeopatia trata o organismo ajudando-o a reencontrar o seu equilíbrio, portanto, está em sintonia com um dos princípios fundamentais da ecologia, a homeostase. Na planta sadia, as respostas à aplicação da homeopatia representam a patogênese das preparações e dos medicamentos. Por outro lado, nas plantas crescidas em condições desfavoráveis, plantas doentes, as respostas expressam a similitude entre a espécie e a homeopatia (ANDRADE, 2000).

Os medicamentos homeopáticos são preparados por intermédio da "dinamização", processo que acentua as propriedades sutis de cura (MARKS, 1997). Os medicamentos homeopáticos são preparados a partir de substâncias naturais do reino vegetal, mineral ou animal. A liberação do potencial interno da substância depende não só desta, que é aglomerado de diversas energias harmônicas entre si, mas também da escala de diluição utilizada, que pode ser decimal (1:10), centesimal (1:100) ou milesimal (1:1000), sendo a centesimal (C) e a decimal (D) as mais utilizadas. Dentre os medicamentos homeopáticos há os nosódios, que estão incluídos no Sistema Isopático, onde rege a Lei da

Igualdade, ou seja, trata-se a doença por meio das próprias causas que as produzem, sendo de grande poder terapêutico (ANDRADE, 2000).

Na visão dos homeopatas, segundo Egito (1999), citado por ANDRADE (2000), em todos os organismos há intercâmbio permanente e intenso entre o todo e suas partes constitutivas, visando assegurar o funcionamento harmônico integrado, com o objetivo de perpetuar espécies e processos. Do contrário, estabelece-se o estado de desarmonia, que se revela sob a forma de doença. A física moderna tem demonstrado que o ser vivo é um campo denso de energia. Qualquer perturbação nesse campo pode suscitar a doença, assim como alguma forma potente de energia pode reequilibrá-lo (MARKS, 1997).

Ao longo da história da agricultura, muitos sintomas físicos têm sido identificados nas plantas nativas ou cultivadas, assim como em todos os seres vivos, que representam tentativa de reequilíbrio energético. Esses sintomas são, em geral, suprimidos pela aplicação maciça de insumos químicos ou similares, ao invés de se permitir que esses sintomas se manifestem, harmonizando o ser vivo com seu habitat natural (MORENO, 1999; ANDRADE, 2000). Os preparados "dinamizados" da homeopatia reequilibram o sistema energético sutil do corpo (MARKS, 1997). Eles são diluições infinitesimais da substância original, seja de alguma essência venenosa, como *Atropa beladonna*, seja da substância inócua como o sal (*Natrum muriaticum*). O efeito não depende apenas do modo como o medicamento foi preparado, mas também se a utilização está de acordo com os princípios da ciência homeopática: (1) semelhante cura semelhante, (2) experimentação em organismo sadio, (3) remédio único e (4) dose mínima (MARKS, 1997). Segundo a lei do semelhante, proposta primeiramente por Hipócrates, as substâncias curam os mesmos sintomas que são capazes de produzir quando experimentadas no organismo sadio. Por meio da experimentação de cada substância no organismo, com o aparecimento dos sintomas artificiais, obtém-se o quadro sintomático, ou seja a patogenesia. O conjunto das patogenesias forma a Matéria Médica Homeopática (SCHEMBRI, 1976).

Na inexistência de Matéria Médica Homeopática Vegetal, muitas homeopatias vêm sendo experimentadas em plantas consideradas sadias, e em plantas consideradas doentes, procurando-se em todos os casos, obedecer aos princípios da homeopatia. Agricultores de vários pontos do Brasil, e mesmo

de outros países, como Inglaterra e Cuba, vêm utilizando homeopatia em plantas com resultados positivos em relação ao aumento da resistência a parasitas e doenças, tolerância a condições físicas impróprias, florescimento, quebra de dormência de sementes e produção de mudas sadias (ARENALES, 1998; ANDRADE, 2000). A maior parte dessas experiências estão sendo feitas aplicando-se homeopatia na planta considerada sadia, a fim de investigar os respectivos efeitos ou no organismo doente, ou estressado, com o objetivo de reequilibrá-lo no seu ambiente, e assim curá-lo

Arnica montana é indicada a organismos com comportamento defensivo e hipersensibilidade ao tato após condições ou situações traumáticas. Considerando-se agressivos, os processos adaptativos impostos aos vegetais e a condição de luta contínua pela sobrevivência e perpetuação da espécie, medicamentos homeopáticos que tenham efeitos compatíveis com essa condição podem ser úteis. ANDRADE (2000) ao analisar a história de *Justicia pectoralis*, espécie originária das Américas tropicais, onde crescem em condição de sub-bosque de floresta secundária, e difundida em outros ambientes, verificou muitas semelhanças com esse quadro de agressão.

O objetivo desse estudo foi (1) determinar os efeitos da homeopatia *Arnica montana*, nas escalas decimais ou centesimais, sobre o crescimento das plantas de *Tanacetum parthenium* sadias e respectivo teor de partenólídeo; (2) determinar o efeito do tratamento homeopático sobre o crescimento de plantas de *T. parthenium* submetidas a deficiência hídrica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Em dois experimentos testou-se o efeito da homeopatia *Arnica montana*, em cinco potências, em plantas sadias de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. No terceiro experimento avaliou-se os efeitos da homeopatia *Natrum muriaticum*, e da preparação homeopática (nosódio) feita com a parte aérea da planta de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip submetida à deficiência

hídrica prolongada, na recuperação de plantas de *T. parthenium* estressadas devido ao condicionamento, por um mês, à deficiência hídrica.

2.1. Efeito da homeopatia *Arnica montana*, preparada na escala decimal, sobre artemísia

Plantas de *T. parthenium* (L.) Schultz-Bip foram obtidas de sementes, cedidas pelo Grupo Entre Folhas (Universidade Federal de Viçosa, UFV). A semeadura foi feita em bandejas, no final de março de 1999. As plantas com cerca de oito centímetros foram transplantadas em vasos de dez litros, preenchidos com substrato constituído por terra, areia, esterco bovino curtido, na proporção 3:1:0,5. Após, aproximadamente um mês, as plantas receberam adubação com 500 g de esterco bovino curtido, em cobertura. As aplicações de homeopatia, realizadas uma vez por semana entre 17 e 18 horas, foram iniciadas quinze dias depois, tendo as plantas cerca de 20 cm de altura e, em média, 65 folhas. O experimento foi conduzido a pleno sol, no viveiro de plantas ornamentais da UFV, Viçosa, MG.

2.1.1. Preparo das Soluções Homeopáticas

A homeopatia *Arnica montana* foi adquirida em laboratório de manipulação de medicamentos homeopáticos, na dinamização decimal D1. A partir desta foram feitas as demais potências requeridas (D2, D3, D4 e D5), segundo técnicas oficiais da Farmacopéia Homeopática Brasileira e procedimento adotado por ANDRADE (2000), no Laboratório de Homeopatia da UFV.

Em cada litro de água desmineralizada, adicionou-se dez gotas (0,6 mL) da *Arnica montana* no momento da aplicação, acondicionando-se em garrafa plástica. Após agitação dos frascos procedeu-se a aplicação imediata nas plantas.

2.1.2. Estudo Estatístico

As variáveis altura e número de folhas foram analisadas adotando-se o esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas as potências D1, D2, D3, D4, D5 de *Arnica montana*, e o controle, e nas subparcelas o número de dias após início das aplicações dessas soluções homeopáticas (0, 15, 30, 45,

60 e 75), no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. As demais variáveis, massa fresca e seca e teor de partenólídeo, foram avaliadas apenas no final do experimento, que foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e seis tratamentos, totalizando 24 parcelas, constituídas por quatro vasos, com uma planta.

Os dados foram interpretados por meio da análise de variância e de regressão. Os fatores qualitativos foram comparados por teste de média (Tukey), e os quantitativos por análise de regressão. Os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste "t" a 5% de probabilidade, e o coeficiente de determinação. Avaliou-se os efeitos das potências sobre altura, número de folhas, massa fresca, número de dias até o aparecimento de botões florais e teor de partenólídeo na parte aérea das plantas.

2.1.3 Tratamentos

Os tratamentos homeopáticos constituíram-se da aplicação semanal das soluções de *Arnica montana*, escala decimal. Uma vez por semana, 200 mL de cada solução foi colocada, no solo ao redor da planta, em cada vaso. Do dia 14 de julho até 22 de setembro de 1999, cada planta do experimento recebeu o mesmo tipo de solução homeopática. As plantas do tratamento controle receberam 200 mL de água desmineralizada, ao invés da solução homeopática. A irrigação foi feita sempre que necessário, por meio de mangueira, em horário diferente da aplicação das homeopatias.

2.1.4 Crescimento

O crescimento das plantas foi monitorado por meio de medições periódicas (quinzenais) da altura e do número de folhas. A altura foi medida por meio de régua milimetrada e o número de folhas foi contado, em cada planta, incluindo as folhas em início de expansão, com cerca de 3,0 cm de comprimento, e as folhas em início de senescência; ou seja antes da abscisão. As primeiras medições foram realizadas no dia anterior às aplicações de *Arnica montana*, escala decimal, denominado dia zero.

As colheitas da parte aérea das plantas foram realizadas manualmente, cortando-se o caule rente ao solo com tesoura de poda, sempre no horário

compreendido entre 17:00 e 18:00 horas. A massa fresca e seca da parte aérea foi determinada em balança semi analítica ao final do experimento. As plantas coletadas foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e levadas à sala de secagem do Grupo Entre Folhas (UFV, Viçosa), onde permaneceram espalhadas em bandejas, à temperatura ambiente e umidade controlada em 50%, por meio de desumidificador. Após cerca de quarenta e cinco dias determinou-se a massa dessas plantas, que foi denominada de massa seca da parte aérea. Posteriormente, as plantas foram embaladas em sacos de polipropileno e armazenadas em " freezer " a - 40 °C, com o fim de preservar o princípio ativo de possíveis contaminações fúngicas, até sua utilização na extração de partenólídeo, aproximadamente cinco meses depois.

2.1.5 Extração e Determinação do Partenólídeo

A extração feita a partir da parte aérea (folhas, botões florais e inflorescências, sem os ramos mais espessos) foi de acordo com método descrito por BROWN et al. (1997; 1999), com adaptações. Hastes e ramos laterais mais espessos foram removidos antes da extração a fim de facilitar o processo da moagem. As folhas, inflorescências e ramos mais tenros foram moídos em moinho mecânico e utilizadas na extração do partenólídeo. Amostra de 200 mg da planta seca e moída foi homogeneizada em 16 mL de clorofórmio e em seguida, submetida a banho-maria com ultrassom por 15 minutos. Posteriormente, esse extrato foi filtrado em funil de vidro com papel filtro Whatmann nº 1. O filtrado foi levado ao evaporador rotativo a 38 °C, visando eliminação completa do solvente. Após pesagem do resíduo sólido, este foi ressuspenso em clorofórmio e acondicionado em frascos com tampa rosqueável, onde foi deixado por cerca de 12 a 15 horas, à temperatura ambiente, até completa evaporação do solvente. As condições de determinação do teor de partenólídeo em cada amostra foram similares às descritas por HENDRIKS et al. (1997).

Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa, utilizando-se aparelho Shimadzu, modelo GC - 17A, equipado com detector de ionização de Cama, acoplado a registrador e integrador C-R6A Cromatopac. A coluna utilizada foi a capilar SBP-5 (Supelco), com 30 cm de comprimento por 0,25

mm de diâmetro interno, e filme com espessura de 0,25 µm. O gás carreador foi o nitrogênio. As temperaturas utilizadas no injetor (270 °C) e no detector (300 °C) foram definidas durante os testes preliminares. A temperatura da coluna durante a extração aumentou de 220 a 250 °C, com isoterma de dez minutos em 250 °C.

As amostras do extrato foram precisamente pesadas (cerca de 10 mg) e diluídas em 10 mL de clorofórmio, sendo injetado 1 µL do extrato. Nessas alíquotas (1 µL) do extrato total foram quantificados os teores de partenólídeo, por meio de curva padrão construída com dados de injeções de 50 a 250 ppm do padrão de partenólídeo, dissolvido em clorofórmio.

O teor de partenólídeo nas amostras foi expresso de duas formas: (1) teor de partenólídeo por planta individual, em relação a massa da matéria seca da parte aérea (em miligrama) e (2) teor de partenólídeo em 100 gramas de massa seca (porcentagem).

2.2. Efeito da homeopatia *Arnica montana*, preparada na escala centesimal, sobre artemísia

A metodologia adotada nesse experimento, conduzido paralelamente ao anterior, foi similar; sendo que as potências centesimais (C1, C2, C3, C4, e C5) foram preparadas a partir da homeopatia *Arnica montana* C1, adquirida em laboratório de manipulação de homeopatia.

2.3. Efeito do tratamento homeopático na recuperação de plantas de artemísia submetidas à deficiência hídrica

Plantas de *Tanacetum parthenium* (L.) Shultz-Bip foram obtidas de sementes, cedidas pelo Grupo Entre Folhas (UFV). A semeadura foi feita em bandejas, em setembro de 2000. No início de outubro foram transplantadas em vasos de três litros, preenchidos com substrato de terra, areia e esterco bovino curado, na proporção 3:2:1.

2.3.1. Tratamentos

Os tratamentos constituíram-se de duas condições hídricas das plantas e da aplicação de homeopatias. Uma semana após o transplante em vasos, duas condições de disponibilidade de água no substrato foram impostas às plantas: 90% e 65% da capacidade de campo do substrato. Quando iniciado o experimento, as plantas tinham cerca de seis centímetros de altura e oito folhas.

A capacidade de campo (24%) do solo utilizado como substrato dos vasos, foi determinada previamente por meio da curva de retenção de umidade, realizada segundo técnicas de rotina do Laboratório de Física do Solo, do Departamento de Solos da UFV. As condições de disponibilidade de umidade almejadas foram controladas por meio da pesagem diária dos vasos e o controle da irrigação.

Após um mês de controle da disponibilidade de umidade no solo imposta às plantas, foram iniciadas as aplicações diárias de homeopatia, e as plantas voltaram a ser irrigadas diariamente de acordo com a necessidade, em horário diferente da aplicação da homeopatia.

As aplicações de homeopatia, realizadas no intuito de recuperar as plantas após o condicionamento hídrico foram feitas diretamente no solo dos vasos, em torno das plantas. As homeopatias utilizadas foram *Natrum muriaticum* (cloreto de sódio) e o nosódio de *T. parthenium*. A primeira foi adquirida em laboratório de manipulação de produtos homeopáticos, na potência centesimal C2, e a segunda, também na potência C2, foi preparada no Laboratório de Homeopatia do Departamento de Fitotecnia da UFV, segundo técnicas oficiais da Farmacopéia Homeopática Brasileira e procedimentos adotados por ANDRADE (2000). O nosódio foi obtido a partir de tintura mãe preparada com a parte aérea de planta de *Tanacetum parthenium* submetida a deficiência hídrica por cerca de três meses consecutivos em vaso. Esta planta, obtida de sementes cedidas pelo Grupo Entre Folhas, cresceu a pleno sol, em vaso de 5 L, preenchido com terra, areia, esterco bovino curtido, na proporção 3:2:1, em condição de deficiência hídrica severa, sendo minimamente irrigada apenas quando suas folhas começavam a murchar.

A tintura mãe foi obtida a partir da maceração da parte aérea da planta, cortada em pequenos pedaços, misturada à solução aquosa de etanol 70%

v/v, e parcialmente triturados em liquidificador. Essa mistura foi mantida totalmente coberta e fechada por cerca de 15 dias. Após esse tempo, foi filtrada e armazenada em frasco escuro até utilização. De posse da tintura mãe, preparou-se as potências C1 e C2.

As plantas controle receberam apenas água destilada, o veículo utilizado no preparo das homeopatias. As aplicações das soluções homeopáticas foram feitas, diariamente, durante doze dias, entre 17 e 18 horas.

2.3.2. Determinações bioquímicas e fisiológicas

Crescimento — Os efeitos sobre o crescimento foram avaliados por meio de determinações da altura, número de folhas, número de botões florais e massa fresca da parte aérea das plantas. As medições foram feitas quando concluído o condicionamento hídrico e iniciadas as aplicações de homeopatia (dia 0), no dia em que terminaram as aplicações de homeopatia (dia 12), doze dias após (dia 24) e 24 dias após (dia 36).

Estimativa do Teor de Clorofila Total — O teor de clorofila total foi estimado, em cada época de colheita, nas folhas expandidas do terço superior das plantas, por meio do medidor de clorofila MINOLTA SPAD - 502 (HOEL, SOLHAUG, 1998).

Extração e Determinação de Prolina — As determinações do teor de prolina foram feitas nas amostras foliares coletadas em cada época de colheita (0, 12, 24 e 36 dias após início das aplicações de homeopatia), as quais foram congeladas com nitrogênio líquido, acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas a - 40 °C. A extração de prolina foi realizada no Laboratório de Melhoramento de Hortaliças do Departamento de Fitotecnia, na UFV, a partir de 300 mg de amostras foliares frescas homogeneizadas em 10 mL de ácido sulfosalicílico 3%. E a estimativa do teor de prolina foi feita segundo método colorimétrico de BATES et al. (1973).

2.3.3 Estudo Estatístico

O experimento foi instalado segundo esquema de parcela subdividida, tendo nas parcelas o arranjo fatorial 2 X 3 (dois níveis de umidade no solo e três tipos de homeopatia), e nas subparcelas as épocas de medição (0, 12, 24

e 36 dias após início da aplicação de homeopatia), no delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão. As médias dos fatores qualitativos foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. No fator qualitativo (épocas de medição), os modelos foram escolhidos pela significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste de F, no coeficiente de determinação, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. O coeficiente de determinação (R^2) foi calculado pela relação $R^2 = \text{SQ}(\text{regressão}) / \text{SQ}(\text{época})$, onde SQ é a soma dos quadrados. Todas as análises estatísticas foram feitas com o auxílio do programa estatístico SAEG.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito da Homeopatia *Arnica montana*, preparada na escala decimal, em *Tanacetum parthenium*

A aplicação semanal de soluções de *Arnica montana*, nas potências D1, D2, D3, D4 e D5, independentemente da presença de adubação orgânica em cobertura, não alterou o número de folhas nas plantas de *Tanacetum parthenium*, similarmente ao que ocorreu quando *Arnica montana*, em escala centesimal, foi aplicada em *Justicia pectoralis* (ANDRADE, 2000). O efeito sobre o crescimento em altura das plantas de *T. parthenium*, por outro lado, foi pequeno (Apêndice). As plantas tratadas ou não com solução homeopática continuaram crescendo em altura até o final do período monitorado, sendo que nas plantas que receberam *Arnica montana* D1 ou D5 verificou-se maior altura, Figura 1 e Quadro 1, a partir de 30 dias após a primeira aplicação de homeopatia.

A aplicação da *Arnica montana*, escala decimal, causou aumento da massa fresca, Quadro 2, e seca, Quadro 3, na parte aérea, exceto na potência D3. No entanto, o teor de partenólídeo por planta, Quadro 3, ou em porcentagem, Quadro 2, diminuiu devido ao tratamento homeopático. O teor de partenólídeo por planta foi menor nas plantas tratadas com as potências D1,

D2, D4 ou D5, Quadro 3, independente de terem sido previamente adubadas. A potência D3 foi a única que não causou redução significativa no teor de partenólídeo. É da experiência dos homeopatas, desde Hahnemann, que determinadas potências atuam de modo diferenciado (ANDRADE, 2000), daí a importância da experimentação na Homeopatia. A diminuição do teor de partenólídeo por planta nas aplicações de D1, D2, D4 ou D5 revela a especificidade das potências e o poder impactante dessas preparações, por interferir com a substância fármaco ativa mais importante dessa espécie.

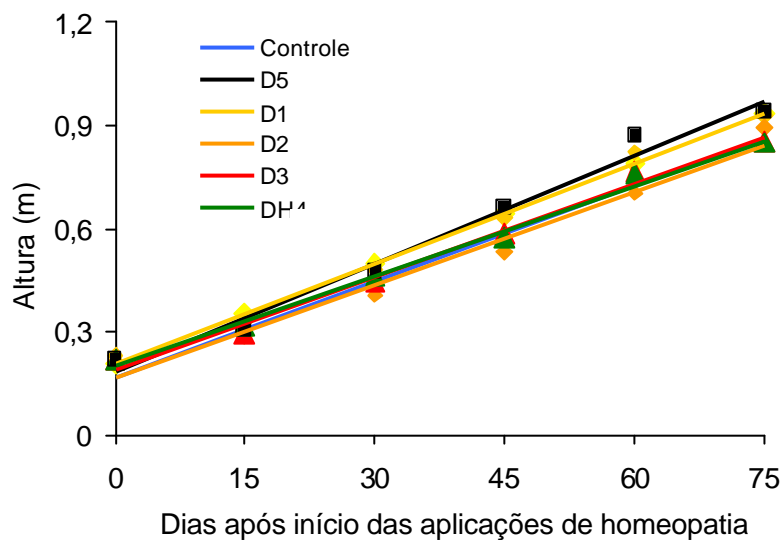


Figura 1. Estimativa da altura das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias após início das aplicações semanais de *Arnica montana*, escala decimal, nas potências D1, D2, D3, D4 ou D5, independente de ter sido feita adubação orgânica previamente.

Similarmente ao verificado por ANDRADE (2000) com plantas de *Justicia pectoralis* que receberam a homeopatia *Arnica montana*, em escala centesimal, as plantas de *T. parthenium* com menor acúmulo de massa fresca possuíam maior teor do metabólito secundário analisado. Segundo a mesma autora, o aumento do crescimento e a diminuição dos níveis de defesa podem estar expressando a retomada à homeostase, levando ao equilíbrio na distribuição de energia entre processos de crescimento e de defesa.

Quadro 1. Equações ajustadas da altura das plantas de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias (D) após início das aplicações da homeopatia *Arnica montana*, em escala decimal (D1 a D5) e os respectivos coeficientes de determinação

Homeopatia	Equação	r ²
Controle	Y = 16,8869 + 0,924405**D	0,98
D1	Y = 20,5000 + 0,971667**D	0,98
D2	Y = 16,4494 + 0,911071**D	0,97
D3	Y = 19,1012 + 0,897024**D	0,98
D4	Y = 20,2679 + 0,872024 *D	0,98
D5	Y = 18,5774 + 1,04571 ** D	0,97

* e ** indicam significância a 5% e 1% a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 2 Médias de massa fresca e porcentagem de partenólídeo na parte aérea das plantas de *Tanacetum parthenium*, independente da presença de adubação orgânica em cobertura, após aplicações semanais da *Arnica montana*, escala decimal (D1, D2, D3, D4 ou D5)

Homeopatia	Massa fresca (g)	Partenólídeo (%)
Controle	242,69 BC	1,61 A
D1	310,78 A	0,52 B
D2	283,17 ABC	0,47 B
D3	235,78 C	1,86 A
D4	274,06 ABC	0,34 B
D5	292,49 AB	0,43 B

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, nas colunas, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Entre as plantas adubadas, aquelas tratadas com D4 ou D5 foram as primeiras a emitir botão floral, e entre as não adubadas as tratadas com D1, D3 ou D5 foram as primeiras a florir, Quadro 4. *Arnica* D5 causou aumento significativo no número médio de inflorescências nas plantas adubadas ou não. Nas plantas não adubadas, todas as potências de *Arnica*, em escala decimal, exceto D2, causaram aumento no número de inflorescências por planta e acelerou a emissão de botão floral.

Quadro 3. Médias de massa seca da parte aérea, em gramas, e teor de partenólídeo por planta, em relação a massa seca das plantas de *Tanacetum parthenium*, que receberam adubação orgânica ou não, em cobertura, após aplicação da homeopatia *Arnica montana* nas potências D1, D2, D3, D4 e D5

	Massa seca (g)		Partenólídeo (mg/planta)	
	Adubadas	Não adubadas	Adubadas	Não adubadas
Controle	107,34 AB	76,00 BC	1876,6 A	1123,4 A
D1	113,16 A	107,44 A	478,1 B	651,4 AB
D2	110,94 A	75,15 BC	674,5 B	252,5 B
D3	91,64 B	68,80 C	1615,2 A	1315,7 A
D4	106,63 AB	81,31 BC	196,8 B	402,3 B
D5	115,68 A	88,26 B	540,5 B	350,6 B

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, nas colunas, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Quadro 4. Número médio de inflorescências por planta e tempo médio necessário à emissão de botões florais nas plantas de *Tanacetum parthenium* tratadas com *Arnica montana*, em escala decimal (D1, D2, D3, D4 ou D5), semanalmente, em cada nível de fertilização (com adubação orgânica em cobertura ou sem)

Homeopatia	Número de inflorescências		Tempo médio para emitir botão	
	Adubadas	Não adubadas	Adubadas	Não adubadas
Controle	55,25 B	50,00 B	47,0 AB a	50,0 A a
D1	48,00 BC	119,00 A	47,0 AB a	42,25 B a
D2	16,50 C	47,25 B	54,0 A a	46,25 AB b
D3	81,50 B	91,25 A	47,5 AB a	42,25 B b
D4	76,00 B	107,75 A	45,25 B a	45,50 AB a
D5	127,00 A	102,00 A	42,75 B a	42,25 B a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula, nas colunas, e minúscula nas linhas, para cada variável, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Arnica montana acelerou o florescimento tanto das plantas adubadas, quanto daquelas não adubadas, Quadro 4. A capacidade de florescer, segundo TAIZ e ZEIGER (1998), é alcançada quando as plantas atingem certa idade ou

dimensão. Em algumas plantas, segundo os mesmos autores, a transição ao florescimento ocorre independentemente do ambiente. Em outras, no entanto, requer exposição a condições ambientais, especialmente relacionadas ao comprimento do dia e temperatura apropriadas. Além disso fatores estressantes como deficiência hídrica podem acelerar a transição ao estágio de florescimento. Assim, o florescimento prematuro ocorrido pode ser considerado como patogenesia de *Arnica montana* D2, significando que plantas com florescimento precoce poderiam ser tratadas com esta homeopatia.

O início das aplicações das soluções homeopáticas nas plantas de *T. parthenium* foi, provavelmente, tardia. O objetivo seria verificar efeito da *Arnica montana* sobre plantas sadias, por isso aguardou-se a adaptação das plantas à nova condição, após o transplante em vasos, o que implicou na demora das aplicações de homeopatia. Se as soluções homeopáticas fossem aplicadas imediatamente após o transplante o impacto do medicamento sobre o crescimento das plantas poderia ser maior. O transplante em vasos causa estresse nas plantas, uma vez que manipula-se muito os órgãos das plantas, podendo mesmo causar alguma lesão nos seus tecidos constituintes. *Arnica montana* é o medicamento mais indicado em processos adaptativos, inclusive na recuperação de Coques, de impactos físicos e mecânicos e na recuperação de tecidos celulares internos e externos (ANDRADE, 2000; MARKS, 1998; VOISIN, 1987). Portanto a utilização da solução homeopática de *Arnica montana*, em situações similares pode ser útil na recuperação das plantas, e merece ser mais estudada. Contudo o resultado obtido com a preparação D3 é significativo por revelar sua semelhança com o controle e seu contraste com as demais potências estudadas.

O estágio de desenvolvimento das plantas quando receberam as soluções pode, também, ter influenciado na ação da *Arnica*. CASTRO et al. (2000) relata que plantas de rabanete em início de desenvolvimento respondem de forma mais uniforme e intensa à aplicação da homeopatia *Phosphorus*, em escala decimal. Seria interessante, portanto, testar a eficiência da *Arnica montana* em plantas mais jovens e imediatamente após o transplante em vasos.

3.2 Efeito da Homeopatia *Arnica montana*, na escala centesimal, sobre plantas de *Tanacetum parthenium*

A aplicação da *Arnica montana*, escala centesimal, não afetou a altura das plantas e alterou pouco o número de folhas (Apêndice). Entre as plantas que receberam adubação orgânica, houve maior número de folhas no final do período monitorado nas plantas tratadas com C1 ou C3, Quadro 5 e Figura 2 (a). Em ambos os níveis de adubação, menor número de folhas foi encontrado nas plantas tratadas com C4 ou C5, Quadro 5 e Figura 2 (b).

Quadro 5. Equações ajustadas da variável número de folhas de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias (D) após início das aplicações da homeopatia *Arnica montana*, em escala centesimal (C1 a C5), em plantas adubadas (1) e não adubadas (2) e respectivo coeficiente de determinação

Adubação	Homeopatia	Equação	r ²
1	Controle	$Y = 80,7381 + 2,38810^{**}D$	0,90
1	C1	$Y = 64,4048 + 3,01476^{**}D$	0,91
1	C2	$Y = 67,4524 + 2,5857^{**}D$	0,97
1	C3	$Y = 86,8214 + 2,90476^{**}D$	0,94
1	C4	$Y = 102,405 + 2,05810^{**}D$	0,75
1	C5	$Y = 80,0714 + 2,18476^{**}D$	0,96
2	Controle	$Y = 76,7024 + 2,48238^{**}D$	0,98
2	C1	$Y = 78,9048 + 1,96810^{**}D$	0,94
2	C2	$Y = 68,0595 + 2,73286^{**}D$	0,99
2	C3	$Y = 79,6190 + 2,02571^{**}D$	0,96
2	C4	$Y = 75,2857 + 2,05571^{**}D$	0,97
2	C5	$Y = 97,5476 + 1,07429 D$	0,60

* e ** indicam significância a 5% e 1% a 5% de probabilidade pelo teste F.

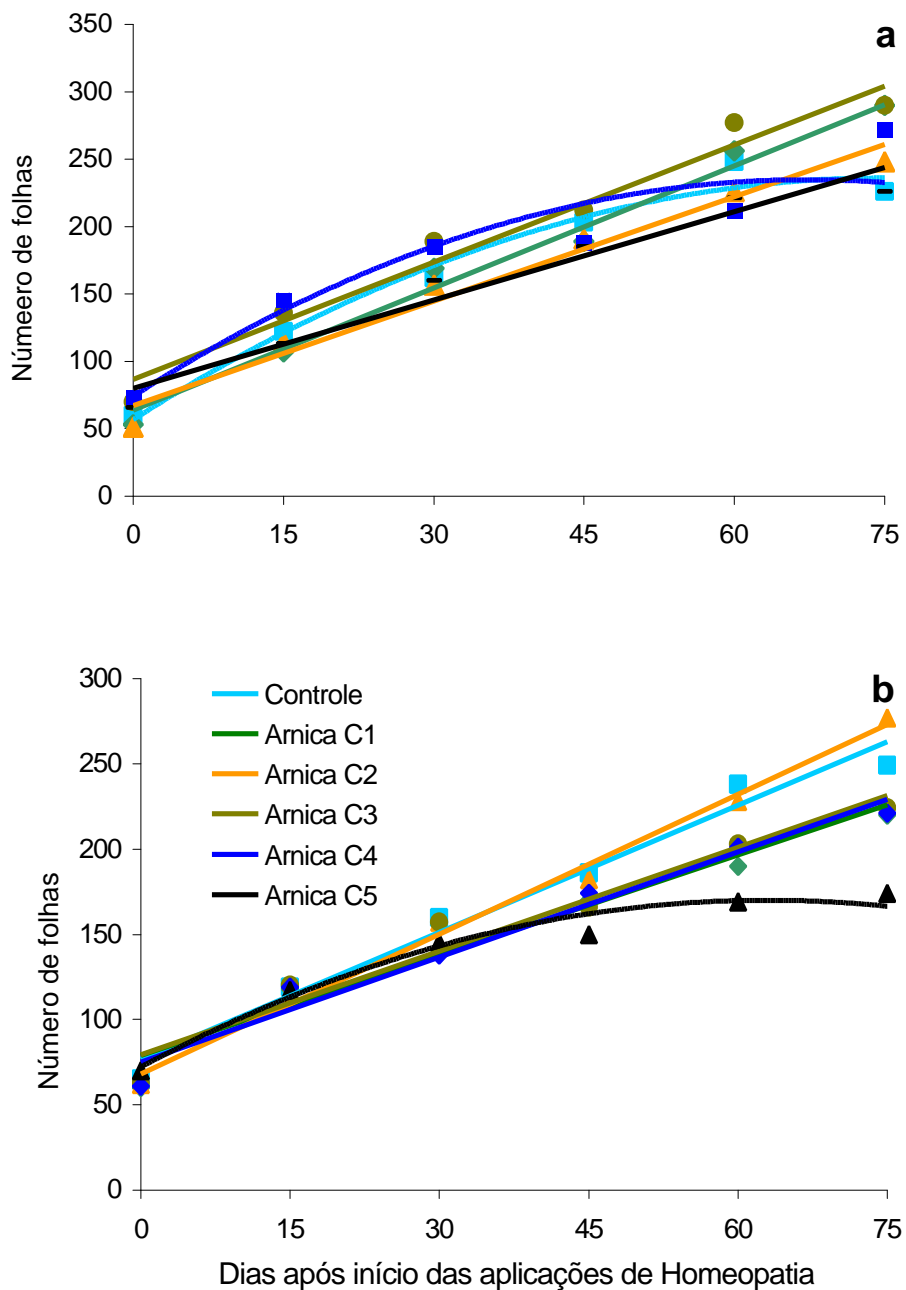


Figura 2. Número de folhas das plantas de *Tanacetum parthenium*, adubadas (a) ou não (b), tratadas semanalmente com *Arnica montana*, nas potências C1, C2, C3, C4 ou C5, em função dos dias após início das aplicações.

Quadro 6. Número médio de inflorescências por planta de *Tanacetum parthenium*, adubada ou não, após tratamento homeopático com *Arnica montana*, em escala centesimal (C1, C2, C3, C4 e C5)

Homeopatia	Número de inflorescências por planta	
	Adubadas	Não adubadas
Controle	48,75 B	57,25 A
C1	80,75 A	71,75 A
C2	17,25 C	30,75 BC
C3	30,00 C	39,50 B
C4	27,75 C	16,25 CD
C5	27,25 C	7,75 D

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, nas colunas, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O número de inflorescências por planta no final do período monitorado aumentou, nas plantas adubadas, com a aplicação de C1, Quadro 6, mas nas plantas não adubadas o número de inflorescências nas plantas tratadas com C1 ou não tratadas com *Arnica montana* não foi diferente significativamente (Apêndice). O menor número de inflorescências ocorreu nas plantas não adubadas tratadas com C5, Quadro 6. O tempo médio de emissão de botões florais não foi alterado significativamente com a aplicação da *Arnica* (Apêndice).

Arnica montana, escala centesimal, nas potências C1, C2, C3, C4 e C5, não alterou o acúmulo de massa fresca e seca na parte aérea das plantas (Apêndice). No entanto, a porcentagem de partenólídeo na parte aérea das plantas de *T. parthenium* e o teor de partenólídeo por planta diminuiu em função da aplicação da *Arnica* C3 e C5 (Quadro 7). A diminuição do teor de partenólídeo por planta e da porcentagem de partenólídeo nas plantas de *T. parthenium* após aplicações de *Arnica montana*, escala centesimal, particularmente nas potências C3 e C5, revela a especificidade e poder da homeopatia *Arnica montana*, especialmente dessas potências, no crescimento dessas plantas, por interferir com a substância fármaco ativa mais importante da espécie.

Quadro 7. Porcentagem de partenólídeo e teor de partenólídeo por planta, em relação a massa seca da parte aérea das plantas de *Tanacetum parthenium*, independente do nível de adubação orgânica, tratadas com soluções homeopáticas de *Arnica montana*, escala centesimal C1, C2, C3, C4 ou C5

Homeopatia	Teor de Partenólídeo	
	(%)	(mg/ planta)
Controle	1,61 A	1500,0 A
C1	1,28 A	1059,0 AB
C2	1,0 AB	885,7 ABC
C3	0,50 B	480,8 BC
C4	1,50A	1391,0 A
C5	0,44 B	379,9 C

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, nas colunas, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

3.3. Efeito da homeopatia na recuperação das plantas de *Tanacetum parthenium* submetidas a deficiência hídrica

Antes do controle do nível de disponibilidade de água no solo, as plantas tinham, em média, seis centímetros de altura e oito folhas em média. Um mês após, enquanto as plantas controle, crescidas a 90% da capacidade de campo do solo, tinham, em média 20,5 cm de altura e 42 folhas, as plantas crescidas em condição de deficiência hídrica, solo a 65% da capacidade de campo, tinham cerca de 8,8 cm de altura e 8 folhas. Portanto, as plantas crescidas em deficiência hídrica foram cerca de 57% menores em altura e tinham cerca de 80% menos folhas do que as plantas crescidas a 90% da capacidade de campo do solo.

Após a aplicação de homeopatia, a altura, Quadros 8 e 9, o número de folhas, Quadro 9, e a massa fresca da parte aérea, Quadro 10, das plantas crescidas em condição de deficiência hídrica continuaram significativamente menores do que nas plantas controle, independente do tipo de solução homeopática administrada.

ANDRADE (2000) também não verificou alterações significativas na altura e no número de folhas produzidas por *Justicia pectoralis* após aplicação da homeopatia *Justicia* (nosódio). A única variável de crescimento que teve seus

valores alterados pelas dinâmizações do nosódio *Justicia*, segundo a mesma autora, foi a massa fresca.

Apesar de não se detectar efeito significativo das homeopatias sobre a altura e o número de folhas (Apêndice), utilizando-se a altura das plantas condicionadas a crescimento por um mês a 90% da capacidade de campo como parâmetro, verifica-se tanto no dia 0 quanto no dia 12 redução de 56%, o que indica que não houve recuperação imediata da altura. No entanto, nos dias 24 e 36 verifica-se que a altura das plantas condicionadas a deficiência hídrica foi 30% menor do que nas plantas controle, indicando início da recuperação do crescimento em altura dessas plantas.

A recuperação das plantas em relação a produção de folhas foi mais rápida, Quadro 9. No fim do experimento, o número de folhas nas plantas condicionadas a deficiência hídrica por um mês foi cerca de 16% menor do que nas plantas controle, enquanto que no dia 0, antes da aplicação de homeopatia, essas plantas tinham cerca de 80% menos folhas, indicando que o efeito da deficiência hídrica pode ter sido maior sobre a produção de folhas do que sobre a altura das plantas.

Quadro 8. Equações ajustadas das variáveis altura (H), número de folhas (N), massa fresca (MF) e número de inflorescências (NI) de plantas de *Tanacetum parthenium* condicionadas por um mês a 90 ou 65% da capacidade de campo do solo, em função do tempo em dias (D) e os respectivos coeficientes de determinação

Nível de Água	Variável	Equação	r ²
90% Cap. Campo	H	$Y = 0,2117 + 0,00941^{**} D$	0,99
90% Cap. Campo	N	$Y = 42,0709 + 1,6795^{**} D + 0,03111^{*} D^2$	0,99
90% Cap. Campo	MF	$Y = 39,2862 + 1,51763^{**} D$	0,99
90% Cap. Campo	NI	$Y = 1,5833 - 1,2882^{**} D + 0,06337^{*} D^2$	0,94
65% Cap. Campo	H	$Y = 0,06517 + 0,007861^{**} D$	0,90
65% Cap. Campo	N	$Y = 7,56672 + 0,345834^{**} D + 0,0775462^{**} D^2$	0,99
65% Cap. Campo	MF	$Y = 2,98578 + 0,159510^{**} D + 0,0489367^{**} D^2$	0,99
65% Cap. Campo	NI	$Y = -0,183333 + 0,0229167^{ns} D$	0,59

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 9. Médias de altura, em metros, e de número de folhas nas plantas de *Tanacetum parthenium* condicionadas por um mês a 90 ou 65% da capacidade de campo do solo), 0, 12, 24 e 36 dias após esse condicionamento

Época (dias)	Altura		Número de folhas	
	90%	65%	90%	65%
0	0,2058 a	0,0908 b	42,3 a	8,3 b
12	0,3308 a	0,1450 b	65,9 a	20,8 b
24	0,4425 a	0,2058 b	101,1 a	62,6 b
36	0,5450 a	0,3850 b	142,6 a	119,8 b

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, nas linhas, para cada variável, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O acúmulo de massa fresca na parte aérea das plantas, Quadro 10, também foi alterado pelo condicionamento hídrico das plantas, mas não foi modificado significativamente pela aplicação de homeopatas (Apêndice). Imediatamente após término do controle hídrico, as plantas crescidas com deficiência hídrica tiveram cerca de 93% menos massa fresca, em gramas, e 36 dias após essa data essas plantas tinham apenas cerca de 23% menos matéria fresca. Além do crescimento da parte aérea, o desenvolvimento reprodutivo também foi prejudicado pela deficiência hídrica, mas não foi alterado pela aplicação de homeopatia (Apêndice). Os botões florais apareceram mais tarde nessas plantas e em menor número, Quadro 10.

Quadro 10. Médias de massa fresca e de número de botões florais de plantas de *Tanacetum parthenium* após um mês de condicionamento hídrico (solo a 90 ou 65% da capacidade de campo), nos dias 0, 12, 24 e 36

Época (dias)	Massa fresca (g)		Número de botões	
	90%	65%	90%	65%
0	39,18 a	2,40 b	0a	0a
12	58,18 a	13,69 b	0a	0a
24	74,67 a	33,26 b	2,4a	0b
36	94,39 a	72,73 b	39,0a	1b

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, nas linhas, para cada variável, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O efeito das aplicações de homeopatia nas plantas de *T. parthenium* foi maior em relação ao teor relativo de clorofila das folhas expandidas, Quadros 11 e 12 e Figura 3, e de prolina, Quadros 13 e 14 e Figura 4. As baixas dinamizações desencadearam em *Justicia pectoralis*, segundo ANDRADE (2000), sintomas físicos, revelando investimento no crescimento das plantas, enquanto que altas dinamizações afetaram a planta em outros níveis, possibilitando investimento nas defesas e por conseguinte no teor de metabólitos secundários. Em *T. parthenium*, utilizando a dinamização baixa, C2, verificou-se maior efeito da homeopatia no teor de metabólitos primários relacionados à condição de estresse, do que nas variáveis de crescimento.

Quadro 11. Equações ajustadas da variável teor relativo de clorofila de *Tanacetum parthenium*, em função do tempo em dias (D) de aplicação de homeopatia, nos respectivos níveis de capacidade de campo e de homeopatia e os coeficientes de determinação

Nível de Água	Homeopatia	Equação	r ²
90% CC	Controle	$Y=42,7499 - 1,33128 D + 0,0976584 D^2 - 0,00154083 D^3$	0,99
	<i>Natrum mur.</i>	$Y=41,8050 + 0,132708^{**} D$	0,84
	Nosódio	$Y=37,4850 + 0,253958^{**} D$	0,95
65% CC	Controle	$Y=53,8375 - 0,481250^{**} D + 0,00486112^{*} D^2$	0,96
	<i>Natrum mur.</i>	$Y=60,8025 - 1,2654^{**} D + 0,02344^{*} D$	0,96
	Nosódio	$Y=60,5787 - 1,61010^{**} D + 0,03338^{*} D^2$	0,97

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

As plantas condicionadas à deficiência hídrica tiveram aumento em torno de 40% no teor relativo de clorofila, Quadros 11 e 12. Nessas plantas houve também redução da área foliar (dado não mostrado), o que provavelmente contribuiu, por meio de "efeito de diluição" no aumento verificado do teor relativo de clorofila nas plantas submetidas à deficiência hídrica, Quadro 12 e Figura 3. No entanto, verificou-se durante o período acompanhado, tanto nas plantas que receberam homeopatia quanto nas que não receberam, redução no teor relativo de clorofila das plantas condicionadas a deficiência hídrica, Figura 3. Nas plantas crescidas em substrato a 90% da capacidade de campo, consideradas sadias, tratadas ou não com solução homeopática, houve,

durante o período avaliado, aumento no teor relativo de clorofila, estimado em números de SPAD, Figura 3.

Nas plantas condicionadas à deficiência hídrica e tratadas com o nosódio, imediatamente após o término do tratamento, verificou-se teor de clorofila similar ao das plantas controle, Quadro 12, mostrando que esse preparado homeopático causou recuperação mais rápida do que a aplicação de *Natrum muriaticum*. Vinte quatro dias após término das aplicações de homeopatia, no entanto, todas as plantas tendiam ao mesmo teor relativo de clorofila, Quadro 12 e Figura 3. A patogenesia de *Natrum muriaticum*, provavelmente, foi aumentar o teor relativo de clorofila na planta sadia e diminuir na doente, indicando que, em plantas o efeito das preparações homeopáticas deve ser avaliado não apenas na planta considerada sadia.

Quadro 12. Teor relativo de clorofila, em números de SPAD, das plantas de *Tanacetum parthenium* após condicionamento hídrico das plantas à deficiência hídrica (65% da capacidade de campo do substrato) ou não (90% da capacidade de campo) antes (dia 0) da aplicação de água (Hp1), *Natrum muriaticum* (Hp2) ou do nosódio (Hp3) de *T. parthenium*, logo após (12 dias), e 24 e 36 dias após aplicações de homeopatia

Hp	Dias após aplicação de homeopatias							
	0		12		24		36	
	90%	65%	90%	65%	90%	65%	90%	65%
1	42,75Ba	60,28Aa	38,18Ba	50,58Aa	45,75Aa	42,35Aa	49,50Aa	46,15Aa
2	41,85Bab	53,75Ab	42,73Ba	49,00Aab	46,20Aa	44,85Aa	46,00Aa	42,90Aa
3	37,03Bb	61,10Aa	40,73Aa	44,50Ab	44,58Aa	42,73Aa	45,90Aa	45,35Aa

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula, na linha, e minúscula, na coluna, para cada época, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

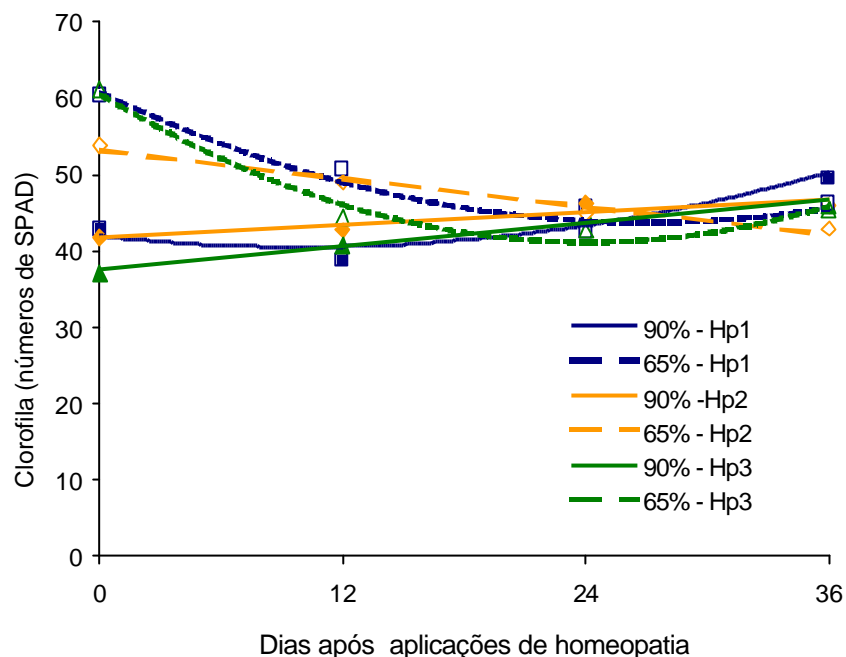


Figura 3. Estimativa do teor de clorofila, em números de SPAD, das plantas de *Tanacetum parthenium* tratadas com *Natrum muriaticum*, na potência C2 (Hp2), com nosódio preparado com *Tanacetum parthenium* estressada por deficiência hídrica, na potência C2 (Hp3) ou apenas com água (Hp1), após um mês de deficiência hídrica no solo (65% da capacidade de campo) ou não (90% da capacidade de campo).

A deficiência hídrica acarretou alto teor de prolina nas folhas, Quadros 13 e 14. A aplicação da homeopatia *Natrum muriaticum* causou redução imediata desse teor nas plantas submetidas a deficiência hídrica, enquanto que nas demais plantas causou aumento, Quadro 14 e Figura 4. A aplicação do nosódio resultou em redução inicial, ainda maior, no teor de prolina, mas após o término das aplicações, diferentemente do *Natrum mur.*, houve aumento novamente nesse teor, Figura 4. Similarmente à variável teor relativo de clorofila, a patogenesia de *Natrum mur.* é revelada pelo aumento no teor de prolina nas plantas consideradas sadias e pela redução nas plantas doentes.

Quadro 13 Equações ajustadas da variável teor de prolina de *Tanacetum parthenium*, em função dos dias (D) após aplicação das soluções homeopáticas, para os respectivos níveis de capacidade de campo e homeopatia e os coeficientes de determinação

Estresse	Homeopatia	Equação	r ²
90% CC	Controle	Y= 31,0929 - 2,12789 ^{**} D + 0,0393099 ^{**} D ²	0,9722
	<i>Natrum mur.</i>	Y=29,4478 + 0,322625 ^{**} D -	0,95
	Nosódio	Y=31,4166 + 1,32462 ^{**} D - 0,0550655 ^{**} D ²	0,75
65% CC	Controle	Y=63,0702 - 4,28844 ^{**} D + 0,0739497 ^{**} D ²	0,99
	<i>Natrum mur.</i>	Y=63,5545 - 4,42306 ^{**} D + 0,0831336 ^{**} D ² -	0,99
	Nosódio	Y=63,7153 - 11,7465 ^{**} D + 0,804659 ^{**} D ² - 0,0142513 ^{**} D ³	1,00

* e ** indicam significância a 5% ou 1% a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 14. Teor de prolina médio nas folhas mais expandidas do terço superior das plantas de *Tanacetum parthenium* não tratadas com homeopatia (Hp1), ou tratadas com a homeopatia *Natrum muriaticum* C2 (Hp2) ou com nosódio, na potência C2 (Hp3) por doze dias consecutivos após condicionamento hídrico do solo a 90% ou 65% da capacidade de campo

Hp	Época de medição (dias)							
	0		12		24		36	
	90%	65%	90%	65%	90%	65%	90%	65%
1	31,96Ba	63,73Aa	8,70Bc	14,00Ac	5,19Ac	4,71Ac	4,60Ac	3,85Bc
2	29,28Ba	63,70Aa	34,32Ab	22,02Ba	35,72Aa	5,71Bb	41,71Aa	11,93Bb
3	28,36Ba	63,72Aa	48,65Aa	20,26Bb	22,22Bb	48,26Aa	10,82Bb	18,75Aa

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula, na linha, e minúscula, na coluna, para cada época, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Natrum muriaticum foi responsável pela alteração mais lenta e mais prolongada no teor de prolina, comparado ao efeito do nosódio. Enquanto *Natrum mur.* causou redução imediata de 65,4% nas plantas previamente condicionadas à deficiência hídrica, o nosódio de *T. parthenium* causou nas mesmas redução de 68,2%. O efeito mais lento e prolongado da homeopatia *Natrum mur.* é mais evidente nas plantas não submetidas à deficiência hídrica. Nessas plantas a homeopatia *Natrum mur.* causou aumento imediato de 17%

no teor de prolina, enquanto que o nosódio causou aumento de 71,5%, Quadro 14. A ação do *Natrum muriaticum* (cloreto de sódio) se explica pelo papel do cloreto de sódio na fisiologia: regularização osmótica das células e fluidos, metabolismo dos cloretos e outros sais. Como substância, é indicado em casos de desidratação aguda, sendo mais conveniente em diluições baixas, até C5, nos casos edematosos (VOISIN, 1987).

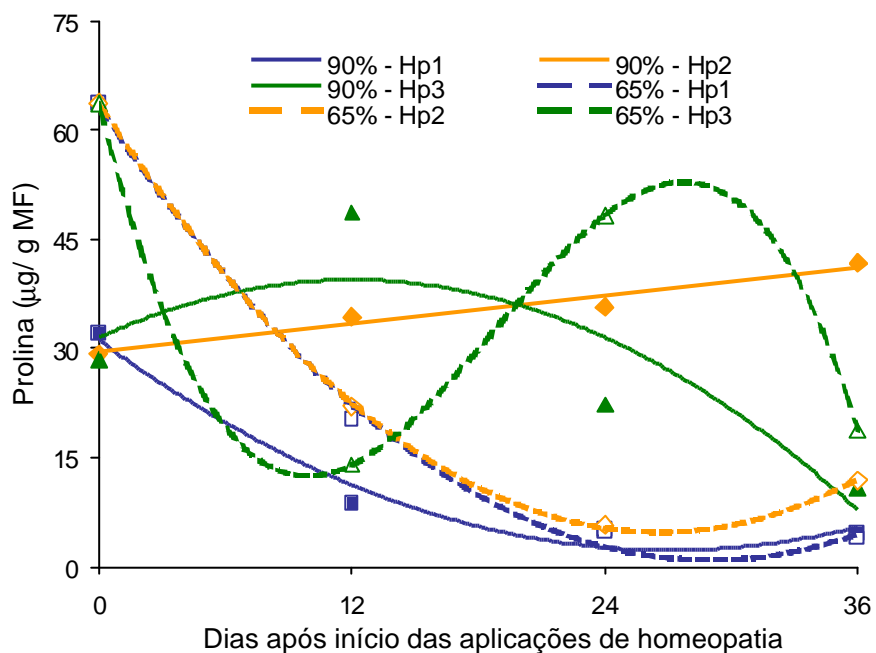


Figura 4. Teor de prolina em plantas de *Tanacetum parthenium* tratadas com *Natrum muriaticum*, na potência C2 (Hp2), homeopatia preparada com *T. parthenium* estressada (nosódio), na potência C2 (Hp3) ou apenas com água (Hp1), após um mês de deficiência hídrica no solo (65% da capacidade de campo) ou não (90% da capacidade de campo).

4 RESUMO E CONCLUSÕES

Plantas de *Tanacetum parthenium* consideradas sadias, obtidas de sementes, receberam, a partir de 15 dias após o transplante em vasos de 10L, 200 mL de solução homeopática de *Arnica montana*, em escala decimal (D1, D2, D3, D4 ou D5) ou centesimal (C1, C2, C3, C4 ou C5), uma vez por semana. A aplicação das potências decimais, independente da presença de adubação orgânica, por cobertura, não alterou a produção de folhas, teve pouco efeito sobre o crescimento em altura, causou aumento significativo de massa fresca e seca (exceto na potência D3) e acelerou o florescimento. Maior altura foi verificada nas plantas tratadas com D1 ou D5, a partir de trinta dias após a primeira aplicação de *Arnica montana*. As plantas tratadas com *Arnica montana* D5, adubadas ou não em cobertura, foram também as primeiras a florir e as com maior número médio de inflorescências. No entanto, independente da presença de adubação orgânica em cobertura, o teor de partenólídeo por planta, ou em porcentagem em relação a massa seca, diminuiu em função do tratamento com *Arnica montana*, escala decimal, exceto nas plantas tratadas com D3. *Arnica montana*, escala decimal, na potência D3 atuou de modo similar ao controle de água.

O efeito da aplicação da *Arnica montana*, em escala centesimal, variou em função da presença de adubação orgânica. Ao contrário do que ocorreu com a aplicação de *Arnica montana*, escala decimal, a aplicação da *Arnica montana*, escala centesimal, não alterou o crescimento em altura e teve pouco efeito sobre a produção de folhas. Nas plantas adubadas e tratadas com C1 ou C3 houve o maior número de folhas, no final do período, enquanto que as não adubadas tiveram redução no número de folhas, exceto com C3. Entre as plantas adubadas, a aplicação de C1 causou aumento no número médio de inflorescências, ao contrário do que ocorreu nas plantas não adubadas. O menor número de inflorescências ocorreu entre as plantas não adubadas e tratadas com C5. O acúmulo de massa fresca e seca não foi alterado, mas o teor de partenólídeo diminuiu com a aplicação da *Arnica montana*, escala centesimal, particularmente com C3 e C5.

A aplicação de homeopatia em plantas condicionadas a deficiência hídrica por um mês não causou alteração significativa no crescimento posterior das plantas. No entanto, com a aplicação das homeopatias *Natrum muriaticum* C2 ou nosódio de *T. parthenium* C2, estressada por deficiência hídrica, houve redução imediata dos níveis de clorofila e de prolina nas plantas com deficiência hídrica, sendo que nas plantas tratadas com *Natrum muriaticum* C2 o efeito foi mais lento e prolongado. As plantas não submetidas à deficiência hídrica responderam ao tratamento homeopático com rápido aumento nos níveis de clorofila e de prolina. Esses resultados revelam a patogenesia de *Natrum muriaticum* de aumentar os teores de clorofila e de prolina nas plantas sadias e diminuir nas plantas doentes.

RESUMO E CONCLUSÃO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de conhecer as características do crescimento, anatomia foliar e teor de partenólídeo das plantas de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. e determinar os efeitos de quatro níveis de disponibilidade de água (100, 90, 70 e 50% da capacidade de campo do solo), de três níveis de irradiância (0, 30 e 50% de sombreamento) e de algumas homeopatas (*Arnica montana*, *Natrum muriaticum* e nosódio preparado a partir de plantas de *T. parthenium* submetidas à deficiência hídrica severa). As plantas, obtidas de sementes, cresceram em vasos preenchidos com substrato constituído de terra, areia e esterco bovino curtido, em Viçosa, MG.

Durante o período do desenvolvimento das plantas acompanhado verificou-se, em plantas crescidas de maio a outubro de 1999, a pleno sol, aumento linear da altura, número de folhas e acúmulo de matéria fresca. A área da folha maior, da folha com dimensões médias, no entanto, diminuiu após a formação das hastes ou ramos, a partir das quais novas folhas e inflorescências se desenvolveram. Ambas faces da epiderme unisseriada são revestidas por tricomas tectores unisseriados e glandulares peltados e capitados. O mesofilo é constituído por parênquima paliçádico e lacunoso. O teor de partenólídeo por planta aumentou com o tempo, mas a porcentagem de partenólídeo na parte aérea das plantas foi maior nos estádios iniciais do desenvolvimento.

A altura, o número de folhas e a área foliar total de cada planta foram, respectivamente, cerca de 15% menor nas plantas de *T. parthenium* crescidas a 50% da capacidade de campo, e de 1 a 5% menores nas plantas crescidas na capacidade de campo, em relação as médias das plantas crescidas a 90%

da capacidade de campo do solo. Apesar das variáveis de crescimento terem sido afetadas pelo nível de disponibilidade hídrica, a espessura total da lâmina foliar e dos seus tecidos constituintes não o foi. O teor relativo de clorofila e o teor de prolina nas folhas foram maiores nas plantas crescidas a 50% da capacidade de campo. O maior teor de prolina nestas plantas provavelmente propiciou ajuste osmótico. O teor de partenólídeo foi menor nessas plantas e maior nas plantas crescidas na capacidade de campo.

As plantas crescidas nos menores níveis de irradiância tiveram maior altura e área foliar total, enquanto o número de folhas produzidas não foi alterado pela redução na irradiância. A redução na irradiância, por meio de sombreamento, causou atraso no florescimento, diminuição do teor de açúcares solúveis, de amido e de partenólídeo.

A aplicação da homeopatia *Arnica montana*, em escala decimal (D1, D2, D3, D4 ou D5), em plantas sadias de *T. parthenium*, independente da presença de adubação orgânica por cobertura, não alterou a produção de folhas, teve pouco efeito sobre o crescimento em altura, acelerou o florescimento e, exceto nas plantas tratadas com D3, causou aumento significativo de massa fresca e seca e diminuiu o teor de partenólídeo.

O efeito da aplicação da *Arnica montana*, em escala centesimal, variou em função da presença de adubação orgânica. Ao contrário do que ocorreu com a aplicação de *Arnica montana*, escala decimal, a aplicação da *Arnica montana*, escala centesimal, não alterou o crescimento em altura e teve pouco efeito sobre a produção de folhas. Nas plantas adubadas e tratadas com C1 ou C3 houve o maior número de folhas, no final do período, enquanto que as não adubadas tiveram redução no número de folhas, exceto com C3. O menor número de inflorescências ocorreu entre as plantas não adubadas e tratadas com C5. O acúmulo de massa fresca e seca não foi alterado, mas o teor de partenólídeo diminuiu com a aplicação da *Arnica montana*, escala centesimal, particularmente com C3 e C5.

A aplicação de homeopatia em plantas condicionadas a deficiência hídrica previamente por um mês não causou alteração significativa no crescimento posterior das plantas. No entanto, com a aplicação das homeopatias *Natrum muriaticum* C2 ou nosódio preparado a partir de *T. parthenium* submetida à deficiência hídrica, na potência C2, houve redução

imediate dos níveis de clorofila e de prolina nas plantas com deficiência hídrica, e aumento nas plantas saudas. Esses resultados revelam a patogenesia do *Natrum muriaticum* que, provavelmente, foi reduzir o teor de clorofila e de prolina nas plantas doentes e aumentar nas plantas saudas. Além disso o efeito do *Natrum muriaticum* foi mais lento e prolongado do que o efeito do nosódio.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M. J.; BERMEJO, P.; VILLAR, A. An approach to the genus *Tanacetum* L. (Compositae): Phytochemical and pharmacological review. Phytotherapy Research 9: 79-92. 1995.
- ANDRADE, F. M. C. Homeopatia no crescimento e na produção de cumarina em chambá, *Justicia pectoralis* Jacq. Viçosa: UFV, 2000. 214p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- ARENALES, M. C. A homeopatia na Agropecuária Orgânica. In: Encontro mineiro sobre produção orgânica de hortaliças, 1, 1998. Viçosa, MG. AnaisViçosa: UFV, 1998. p.: 24-35.
- ARENALES, M. C. Agropecuária Orgânica. In: Seminário Brasileiro sobre homeopatia na Agropecuária Orgânica, 1, 1999. Viçosa, MG. Anais Viçosa:UFV, 1999. p.:54-56.
- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDEER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 13(2): 158-167. 2001.
- ASCENSÃO, L.; MARQUES, N.; PAIS, M. S. Glandular trichomes on reproductive organs of *Leonotis leonorus* (Lamiaceae). Annals of Botany 75: 619-626. 1995.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, J. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207, 1973.
- BEGLEY, M. J.; HEWLETT, M. J.; KNIGHT, D. W. Revised structures for guaianolide α -methylenebutyrolactones from feverfew. Phytochemistry 28: 940-943. 1989.
- BÉJAR, E. Parthenolide inhibits the contractile responses of rat stomach fundus to fenfluramine and dextroamphetamine but not serotonin. Journal of Ethnopharmacology 50: 1-12. 1996.
- BERLYN, G. P., MIKSCHE, J. P. Botanical microtechnique and cytochemistry. Iowa: The Iowa State Univ. Press, 1976. 326 p.
- BERNARDES, M. S. Fotossíntese no dossel das plantas cultivadas. In: P. R. C. CASTRO; S. O. FERREIRA; T. YAMADA (ed.). Ecofisiologia da produção agrícola. Piracicaba: Associação brasileira para pesquisa da potassa e do fosfato, 1987. P.: 13-45.
- BERRY, I. Feverfew faces the future. The pharmaceutical Journal 232: 611-614. 1984.

- BOHLMANN, F.; ZDERO, C. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Tanacetum parthenium*. Phytochemistry 21: 2543-2549. 1982.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 07, de 17 de maio de 1999. Dispõe sobre normas para a produção de produtos orgânicos vegetais e animais. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília v. 99, n. 94, .11-14, 19 de maio de 1999. Seção 1.
- BRISKIN, D. P. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. Plant Physiology 124: 507-514. 2000.
- BROWN JR., K. S. Engenharia ecológica: novas perspectivas de seleção e manejo de plantas medicinais. Acta amazônica 18: 291-303. 1988.
- BROWN, A. M. G.; EDWARDS, C. M.; DAVEY, M. R.; POWER, J. B.; LOWE, K. C. Effects of extracts of *Tanacetum* species on human polymorphonuclear leucocyte activity in vitro. Phytotherapy research 11: 479-484. 1997.
- BROWN, A. M. G.; EDWARDS, C. M.; HARTMANN, T. T. V.; MARSHALL, J. A.; SMITH, R. M.; DAVEY, M. R.; POWER, J. B.; LOWE, K. C. Sexual hybrids of *Tanacetum* : biochemical, cytological and pharmacological characterization. Journal of Experimental Botany 50: 435-444. 1999.
- BURFORD, M. D.; SMITH, R. M. Chemotaxonomic identification of *Tanacetum parthenium* L. (feverfew). Analytical Proceedings 26: 339-341. 1989.
- BUVAT, R. Ontogeny, cell differentiation, and structure of vascular plants. Berlin: Springer-Verlag, 1989. 581p.
- CARVALHO, L. M.; CASALI, V. W. D. Plantas medicinais, e aromáticas: relações com luz, estresse e insetos. Viçosa: UFV, 1999. 148p.
- CASTAÑEDA-ACOSTA, J.; CAIN, A. W.; FISCHER, N. H.; KNOPF, F.C. Extraction of bioactive sesquiterpene lactones from *Magnolia grandiflora* using supercritical carbon dioxide and near-critical propane. Journal of Agricultural Food Chemistry 43: 63-68.1995.
- CASTELLANI, D. C. Crescimento, anatomia e produção de ácido erúico em *Tropaeolum majus* L. Viçosa: UFV, 1997. 108p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Viçosa,1997.
- CASTRO, D. M. Caracterização isozimática, da anatomia foliar, do óleo essencial e germinação de *Leonorus sibiricus* L. Viçosa: UFV, 1998. 96p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Viçosa,1998.

- CASTRO, D. M.; CASALI, V. W. D.; DUARTE, E. S. M.; HENRIQUES, E.; ARRUDA, V. M.; ARMOND, C.; ALMEIDA, A. A. Aplicação da homeopatia *Phosphorus* na escala decimal em plantas de rabanete. Horticultura Brasileira 18 (suplemento): 548-549. 2000.
- CHAPIN III, F. S. Integrated responses of plants to stress. BioScience 41: 29-36.1991.
- CHARTZOULAKIS, K.; DROSOS, N. Water requirements of greenhouse grown pepper under drip irrigation. Acta Horticulturae 449: 175-180. 1997.
- CORREA JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 162p.
- CUTTER, E. G. Anatomia Vegetal: experimentos e interpretação – 2º Parte: Órgãos. São Paulo: Livraria Roca Ltda, 1987. 336p.
- DEVLIN, P. F.; ROBSON, P. R. H.; PATEL, S. R.; GOOSEY, L.; SHARROCK, R. A.; WHITELAM, G. C. Phytochrome D acts in shade avoidance syndrome in *Arabidopsis* by controlling elongation growth and flowering time. Plant Physiology 119: 909-915. 1999.
- DICKSON, R. E. Assimilate distribution and storage. In: A. S. RAGHAVENDRA (ed.). Physiology of trees. New York: John Wiley & Sons Inc., 1991. p. 51-86.
- DOLMAN, D. M.; KNIGHT, D. W.; SALAN, U. A quantitative method for the estimation of parthenolide and other sesquiterpene lactones containing α -methylenebutyrolactone functions present in feverfew, *Tanacetum parthenium*. Phytochemical analyses 3: 26-31. 1992.
- DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Physiological mechanisms of nitrogen absorption and assimilation in plants under stressful conditions. In: M. PESSARAKLI (Ed.). Handbook of plant and crop physiology New York: Marcel Dekker Inc., 1995. p.: 605-625.
- DUDAI, N.; WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; PALEVITCH, D.; HALEVY, A.H. Glandular hairs and essential oils in the leaves and flowers of *Majorana syriaca*. Israel Journal of Botany 37: 11-18. 1988.
- DUKE, S. O.; PAUL, R. N. Development and fine structure of the glandular trichomes of *Artemisia annua* L. International Journal of Plant Science 154: 107-118. 1993.
- EINHELLIG, F. A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. Agronomy Journal 88: 886-893.1996.

- ENGLISH-LOEB, G.; STOUT, M. J.; DUFFEY, S. S. Drought stress in tomatoes: changes in plant chemistry and potencial nonlinear consequences for insect herbivores. Oikos 79: 456-468. 1997.
- FAHN, A. Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves. Annals of Botany 57: 631-637.1986
- FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. New Phytologist 108: 229-257. 1988.
- FIGUEIREDO, L. S. Germinação e Crescimento de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. Viçosa: UFV, 1998. 62p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- FONTES, L. D.; FONTES, M. P. F. Glossário de ciência do solo. Viçosa: UFV, Departamento de Solos, 1992. 142p..
- FRIEND, D. J. C.; POMEROY, M. E. Changes in cell size and number associated with the effects of light intensity and temperatures on the leaf morphology of wheat. Canadian Journal of Botany 48: 85-90. 1970.
- GERSHENZON, J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. Journal of Chemical Ecology 20(6): 1281-1328. 1994.
- GIACOMETTI, D. C. Ervas condimentares e especiarias. São Paulo: Nobel, 1989. 158 p (13-14).
- GOMES, F. T. Crescimento, fotossíntese e metabolismo do nitrogênio em alfafa nodulada sob supressão e ressuprimento de fosfato. Viçosa: UFV, 2000. 100p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- GRANIER, C.; TARDIEU, F. Water deficit and spatial pattern of leaf development. Variability in responses can be simulated using a simple model of leaf development. Plant Physiology 119: 609-619, 1999.
- HARBONE, J. B. Introduction to ecological biochemistry. London: Academic Press Inc. 4 ed. 1993.318p.
- HENDRIKS, H.; BOS, WOERDENBAG, H. J. The essential oil of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. Flavour and Fragrance Journal 11: 367-371. 1996.
- HENDRIKS, H.; ANDERSON-WILDEBOER, Y.; ENGELS, G.; BOS, R.; WOERDENBAG, H. J. The content of parthenolide and its yield per plant during the growth of *Tanacetum parthenium*. Planta Medica 63: 356-359. 1997.

- HEUER, B. Osmoregulatory role of proline in water and salt stress plants. In: M. Pessarakli (ed.). Handbook of plant and crop stress. New York, Marcel Dekker. 1994.
- HEWLETT, M. J.; BEGLEY, M. J.; GROENEWEGEN, W. A.; HEPTINSTALL, S.; KNIGHT, D. W.; MAY, J.; SALAN, U.; TOPLIS, D. Sesquiterpene lactones from feverfew, *Tanacetum parthenium*: isolation, structural revision, activity against human blood platelet function and implications for migraine therapy. J. Chemical Society : 1979-1986. 1996
- HODGE, J. E.; HODFREITER, B. R. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: Whilster, R. L. ; Wolfrom, M. L. (ed.) Methods in carbohydrates chemistry. New York, Academic Press, 1962. v. 1. p.380-394.
- HORNOK, L. (ed.) Cultivation and Processing of medicinal plants. JOHN WILEY AND SONS. 1992.
- HOEL, B. O.; SOLHAUG, K. A. Effect of irradiance on chlorophyll estimation with the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. Annals of Botany 82: 389-392.1998.
- HUNT, R. Basic growth analysis: plant growth analysis for beginners. Londres: U. Hyman, 1989. 112p.
- JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. New york: Macgraw-Hill, 1940, 523p.
- KAGAWA, T.; WADA, M. Chloroplast-avoidance response induced by high-fluence blue light in prothallial cells of the fern *Adiantum capillus-veneris* as analysed by microbeam irradiation. Plant Physiology 119: 917-923. 1999.
- KASPERBAUER, M. J. Light and plant development. In: Wilkinson, R. E. (ed.). Plant-environment interactions. Marcel Dekker Inc., New York. 599p. 1994.
- KÉRY, Á.; TURIÁK, G.; TÉTENYI, P. Isolation of parthenolide by croplet counter-current chromatography. Journal of Chromatography 446: 157-161. 1988.
- KÉRY, Á.; KÓNYA, É.; SZABÓ, E.; TAKÁCA, E. I. Phytochemical standardization and pharmacological studies of *Chrysanthemum parthenium* dried extract. Acta Horticulturae 344: 321-322. 1993.
- KHANNA-CHOPRA, R. Photosynthesis in relation to crop productivity. In: M. YUNUS; U. PATHRE; P. MOHANTY. Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation. London: Taylor & Francis Inc., 2000. p.: 263-280.

- KUBÍNOVÁ, L. Stomata and mesophyll characteristics of Barley leaf as affected by light: sterological analysis. Journal of Experimental Botany 42: 995-1001. 1991.
- KUDREV, T. G. Água: vida das plantas. Trad. José Glicério de Rezende. São Paulo: Ícone, 1994. 178p.
- KUMAR, A.; SINGH, D. P. Use of physiological indices as a screening technique for drought to tolerance in oilseed *Brassica* species. Annals of Botany 81: 413-420. 1998
- LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Paulo, Pedagógica e Universitária, 1986. 319p.
- LETCHAMO, W.; GOSSELIN, A. Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* are influenced by light intensity and water supply. Journal of Horticultural Science 71:123-134.1996.
- LEVITT, J. Responses of plants to environmental stresses: water, radiation, salt and other stresses. 2 ed. New York: Academic Press, 1982. 497p.
- LI, Y., CRAKER, L. E., POTTER, T. Effect of light level on essential oil production on sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). Proceedings Int. Symp. Medicinal and Aromatic Plants. Acta Horticulturae 426: 419-426. 1996.
- MADAN, S.; NAINAWATEE, H. S.; JAIN, R. K.; CHOWDHURY, J. B. Proline and proline metabolising enzymes in in-vitro selected NaCl-tolerant *Brassica juncea* L. under salt stress. Annals of Botany 76: 51-57. 1995.
- MAGALHÃES, A. C. N. Análise quantitativa do crescimento. In: Fisiologia Vegetal 1. Ferri, M. G. (coord.). São Paulo, EDUSP. 1985. P.:333-350.
- MARENCO, R. A.; REIS, A. C. S. Shading as an environmental factor affecting the growth of *Ischaemum rugosum*. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 10: 107-112. 1998.
- MARKS, C. Homeopatia: guia prático. São Paulo: Callis, 1997. 58p.
- MARTINS, E. R.; CASTELLANI, D. C.; CASTRO, D. M.; DIAS, J. E. Plantas Mediciniais. Viçosa: UFV, Impr. Univ.(1995). p79-80.
- MARUR, C. J.; SODEK, L.; MAGALHÃES, A. C. Free amino acids in leaves of cotton plants under water deficit. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 6: 103-108. 1994.
- MICHELE, B. Natural substances useful for the protection of the phytosanitaria of officinal plants. Round table: cultivation and quality of officinal plants. Phytotherapy research 10: s180-s183. 1996.

- MORELLI, G.; RUBERTI, I. Shade avoidance responses. Driving auxin along lateral routes. Plant physiology 122: 621-626. 2000.
- MORENO, J. A. Geografia e homeopatia. In: In: Seminário Brasileiro sobre homeopatia na Agropecuária Orgânica, 1, 1999. Viçosa, MG. AnaisViçosa: UFV, 1999. p.:18-20.
- MORVANT, J. K.; DOLE, J. M.; COLE, J. C. Irrigation frequency and system affect *Poinsettia* growth, water use, and runoff. HortScience 33: 42-46.1998.
- MURCHIE, E. H.; HORTON, P. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. Plant, cell and environment 20: 438-448. 1997.
- NAUTIYAL, S.; NEGI, D. S.; KUMAR, S. Effect of water stress and antitranspirants on the chlorophyll contents of the leaves of *Pongamia pinnata* (L.) Pierre. The Indian Forester 122: 1018-1022. 1996.
- NELSON, N. A. A photometric adaptation of a method for the determination of glucose. Journal of Biological Chemical 153: 375-380. 1944.
- NOBEL, P. S. Physicochemical and environmental plant physiology. San Diego: Academic Press Inc., 1991. 635p.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. Farmacognosia. São Paulo: Atheneu, 1996. 412p.
- PALEVITCH, D.; EARON, G.; CARASSO, R. Feverfew (*Tanacetum parthenium*) as a prophylactic treatment for migraine: a double-blind placebo controlled study. Phytotherapy research 11: 508-511. 1997.
- PEÑUELAS, J.; LLUSIÀ, J. Effects of carbon dioxide, water supply and seasonality on terpene content and emission by *Rosmarinus officinalis*. Journal of Chemical Ecology 23: 979-993. 1997.
- PEÑUELAS, J.; LLUSIÀ, J.; ESTIARTE, M. Terpenoids, a plant language. Tree 10: 289. 1995.
- PIANKA, E. R. Ecología evolutiva. Barcelona: ediciones Omega. 1982. 365p.
- RAO, K. M.; KHAN, P. A. Interaction of abscisic acid and light on leaf senescence in rice. Plant and cell physiology 24: 577- 580. 1983.
- REY, J. P; LEVESQUE, J.; POUSET, J. L. Extraction and high-performance liquid chromatographic methods for the γ -lactones parthenolide (*Chrysanthemum parthenium* Bernh.), marrubiin (*Marrubium vulgare* L.) and artemisinin (*Artemisia annua* L.). Journal of Chromatography 605: 124-128.1992

- SCHEMBRI, J. Conheça a homeopatia. Belo Horizonte: 3 ed. 1992.263p.
- SCHMITT, J. Is photomorphogenic shade avoidance adaptative? Perspectives from population biology. Plant, cell and environment 20: 826-830. 1997.
- SCHUCH, U. K.; REDAK, R. A.; BETHKE, J. A. Cultivar, fertilizer, and irrigation affect vegetative growth and susceptibility of *Chrysanthemum* to western flower thrips. Journal of American Society of Horticultural Science 123: 727-733. 1998.
- SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI- SHINOZAKI, K.; LIU, Q.; ICHIMURA, K.; MIZOGUCHI, T.; URAO, T.; MIYATA, S.; NAKASHIMA, K.; SHINWARI, Z. K.; ABE, H.; SAKUMA, Y.; ITO, T.; SEKI, M. Molecular responses to drought stress in plants: regulation of gene expression and signal transduction. In: M.F. SMALLWOOD; C.W. CALVERT; D.J. BOWLS (Eds.) Plant responses to environmental stress. Bios Scientific Publishers, Oxford, UK., 1999.
- SILVA, A. F. Anatomia dos órgãos vegetativos aéreos e análise do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. e *H. glomerata* Mart ex Schrank (Lamiaceae). Viçosa: UFV, 2000. 91p. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- SIMS, D. A.; PEARCY, R. W. Response of leaf anatomy and photosynthetic capacity in *Alocasia macrorrhiza* (Araceae) to a transfer from low to high light. American Journal of Botany 79: 449-455. 1992.
- SINGH-SANGWAN, N.; FAROOQI, A. H. A; SINGH-SANGWAN, R. Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses. New Phytologist 128: 173-179. 1994.
- SMIRNOFF, N. Metabolic flexibility in relation to the environment. In..... Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation. Oxford: Bios Scientific publishers, 1995. p.1-13.
- SMITH, H.; WHITELAM, G. C. The shade avoidance syndrome: multiple responses mediated by multiple phytochromes. Plant, cell and environment 20: 840-844. 1997.
- SMITH, R. M.; BUDFORD, M. D. Supercritical fluid extraction and gas chromatographic determination of the sesquiterpene lactone parthenolide in the medicinal herb feverfew (*Tanacetum parthenium*). Journal of Chromatography 627: 255-261. 1992.
- SOMAL, T. L. C.; YAPA, P. A. J. Accumulation of proline in cowpea under nutrient, drought, and saline stresses. Journal of plant nutrition 21: 2465-2473. 1998
- SOMOGY, M. Note on sugar determination. Journal of Biological Chemistry 95: 19-23. 1952.

- SOUZA, M. M. Crescimento e metabolismo secundário em duas condições de luminosidade e cultura in vitro de *Plantago major* L. Viçosa, MG.: UFV, 1998. 45p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa. 1998.
- SRIVASTAVA, A. STRASSER, R. J. Stress and stress management of land plants during a regular day. Journal plant physiology 148: 445-455. 1996.
- STAUB, J. M., DENG, X. W. Light signal transduction in plants. Photochemistry and Photobiology 64: 897-905. 1996.
- STEINER, J. J. ; HUTMACHER, R. B.; MANTEL, A. B.; AYARS, J. E.; VAIL, S. S. Response of seed carrot to various water regimes II. Reproductive development, seed yield, and seed quality. Journal of american society of Horticultural Science 115: 722-727. 1990.
- STEPONKUS, P. L. Cold acclimation and freezing injury from a perspective of the plasma membrane. In: KATTERMAN, F. (ed.). Environmental injury to plants London: Academic Press Inc. 1990. 15p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant defenses: surface protection and secondary metabolites In: Plant Physiology. Sunderland: Sinauer Associates Inc., 2ed. p.: 350-353. 1998.
- TEI, F.; SCAIFE, A.; AIKMAN, D. P. Growth of lettuce, onion and red beet. 1. Growth analysis, light interception, and radiation use efficiency. Annals of Botany 78: 633-643. 1996.
- VERSLUES, P. E.; SHARP, R. E. Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) primary roots at low water potentials. II. metabolic source of increased proline deposition in the elongation zone. Plant Physiology 119: 1349-1360. 1999.
- VOGT, K. A., PUBLICOVER, D. A., BLOOMFIELD, J., PERZ, J. M., VOGT, D. J., SILVER, W. L. Below ground responses as indicators of environmental change. Environmental and Experimental Botany 33: 189-205. 1993.
- VOISIN, H. Manual de matéria médica para o clínico homeopata. São Paulo: Andrei, 2 ed. 1987. 1160p.
- WEBER, J. T.; O'CONNOR, M.; HAYATAKA, K.; COLSON, N.; MEDORA, R.; RUSSO, E. B.; PARKER, K. K. Activity of parthenolide at 5HT_{2A} receptors. Journal of Natural Products 60: 651-653. 1997.
- WESTON, L. A.; BARTH, M. M. Preharvest factors affecting postharvest quality of vegetables. HortScience 32: 812-816. 1997.
- WHATLEY, J. M.; WHATLEY, F. R. A luz e a vida das plantas. (traduzido por Gil Martins Felipe). São Paulo: EPU-USP. 1982. 100p.

- WILLIAMS, C. A. HOULT, J. R. S.; HARBONE, J. B.; GREENHAM, J.; EAGLES, J. A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. Phytochemistry 38: 267-270. 1995.
- WINTER, E. J. A água, o solo e a planta. Trad. Klaus Reichardt, Paulo L. Libardi. São Paulo : Nobel, 2 ed. 1988. 170p.
- YAMAURA, T., TANAKA, S., TABATA, M. Light-dependent formation of glandular trichomes and monoterpenes in thyme seedlings. Phytochemistry 28: 741-744. 1989.

APÊNDICE

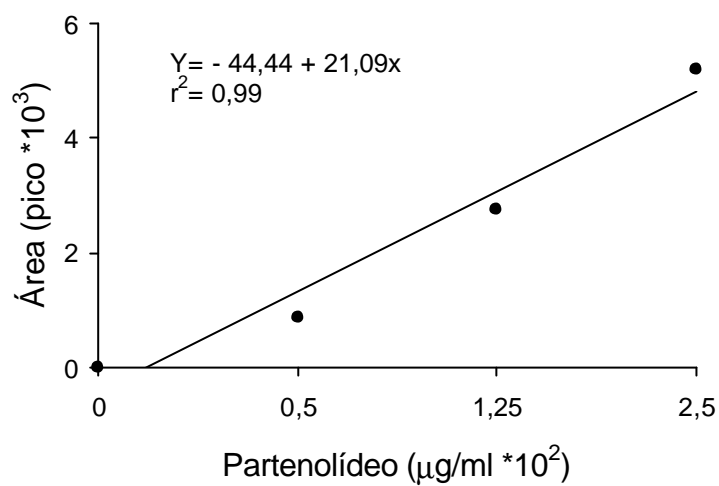


Figura 1A. Curva de calibração do padrão de partenólídeo obtida injetando-se alíquotas no cromatógrafo à gás Shimadzu.

CAPÍTULO 2 — Efeito da disponibilidade de água no solo sobre o crescimento, anatomia foliar, teor de prolina, de clorofila e de partenólídeo em *T. parthenium*

Quadro 1A. Resumo da análise de variância da altura (H), número de folhas (NF), área da folha maior (AF1), área da folha de dimensões médias (AF2) e área foliar total por planta (AF) de plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a 100%, 90%, 70% ou 50% da capacidade de campo do substrato (nível de água)

F.V.	GL	QUADRADO MÉDIO DO RESÍDUO				
		H	N	AF1	AF2	AFPL
Bloco	3	78,2523*	208,2333 ^{ns}	437,0050**	2,225239 ^{ns}	432514,4 ^{ns}
Água (A)	3	260,3434**	2239,633**	390,8580**	97,68459**	6452658,0**
Resíduo (a)	9	20,6271	198,8667	22,90335	10,62500	324279,9
Época (E)	4	6770,379**	53907,39**	5982,348**	1764,950**	54892690,0**
E * A	12	51,46182*	247,9875*	180,7602*	17,63635 ^{ns}	1136916,0*
Resíduo	48	19,89179	104,5207	78,38942	26,14001	286887,0
Média geral		32,327	105,55	47,511	22,497	3457,1
CV(%)sub.		13,79	9,68	18,64	22,73	15,49
CV(%)par.		14,04	13,36	10,07	14,49	16,47

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 2A Resumo da análise de variância da espessura total da lâmina foliar (EST), da epiderme abaxial (EEAB), da epiderme adaxial (EEAD), dos parênquima paliçádico (EPP) e lacunoso (EPL) das plantas de *Tanacetum parthenium*

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo				
		EST	EEAB	EEAD	EPP	EPL
Bloco	2	0,06718957 ^{ns}	0,0006583335**	0,0007020832**	0,008068754 ^{ns}	0,01270208 ^{ns}
Água (A)	3	0,2735076*	0,0008909724**	0,000558333**	0,05107989**	0,1362251**
Resíduo (a)	6	0,06077017 ^{ns}	0,0001055555	0,00006041665	0,01088819	0,01311041
Época (E)	3	0,4658520**	0,0004076386 ^{ns}	0,006213890**	0,1247632**	0,1945639**
E * A	9	0,2513002**	0,0005076387 ^{ns}	0,0004527778*	0,03527060*	0,07297314**
Resíduo	24	0,03821112	0,0003493056	0,0001763888	0,01273333	0,01601665
Média Geral		2,3977	0,18146	0,18542	0,91687	1,1996
CV(%)sub.		8,15	10,30	7,16	12,31	10,55
CV(%)par.		10,28	5,66	4,19	11,38	9,54

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 3A. Resumo da análise de variância das variáveis conteúdo de prolina (PRO), de clorofila (CL), de partenólídeo por planta, em relação a massa seca (PPL), e em porcentagem (PP), massa fresca (MF) e seca (MS) de plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a 100%, 90%, 70% ou 50% da capacidade de campo do solo (nível de água)

FV	GL	QUADRADO MÉDIO DO RESÍDUO					
		PRO	CL	PPL	PP	MF	MS
Bloco	3	7,578350 ^{ns}	427,2245 ^{ns}	0,2868933 ^{ns}	21767,24 ^{ns}	427,2245 ^{ns}	49,95084 [*]
Água (A)	3	1368,536 ^{**}	3836,164 ^{**}	1,627897 ^{**}	171024,3 ^{**}	3836,164 ^{**}	182,1096 ^{**}
Resíduo (a)	9	6,085020 ^{ns}	245,8266	0,2136891	29410,28	245,8266	12,49364
Época (E)	3	19,48870 ^{**}	14529,54 ^{**}	8,063693 ^{**}	597883,9 ^{**}	14529,54 ^{**}	2297,859 ^{**}
E * A	9	3,125547 ^{ns}	136,7701 ^{ns}	1,054100 ^{**}	62077,73 ^{**}	136,7701 ^{ns}	17,69785 [*]
Resíduo	36	4,229070	146,5301	0,1177566	14457,88	146,5301	4,207374
Média Geral		15,677	36,952	3,5001	394,44	103,01	23,704
CV(%)sub.		13,12	4,55	11,88	23,48	11,75	8,65
CV(%)par.		15,74	42,43	13,21	43,48	15,22	14,91

* , ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

CAPÍTULO 3. Efeitos da irradiância no crescimento, produção de açúcares e de partenólídeo em *T. parthenium*

Quadro 4A. Resumo da análise de variância da altura (H), número de folhas (NF), área da folha maior (AF1), área da folha de dimensões médias (AF2) e área foliar total por planta (AF) de plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a 100%, 70% ou 50% da luminosidade natural

F.V.	GL	QUADRADO MÉDIO DO RESÍDUO				
		H	N	AF1	AF2	AFPL
Bloco	3	0,02918332**	1428,583 ^{ns}	0,00000894**	0,00000043 ^{ns}	0,1317683**
Luz (L)	2	0,2102980**	47,47619 ^{ns}	0,00004419**	0,00001459**	0,5656077**
Resíduo (a)	6	0,006376338	1972,619	0,00000191	0,00000095	0,1454233
Época (E)	6	1,049061**	60961,02**	0,00006484**	0,00002983**	1,384993**
E * L	12	0,02058476*	1009,240 ^{ns}	0,000005578 ^{ns}	0,0000030**	0,1280037 ^{ns}
Resíduo	54	0,007857655	1196,468	0,00000334	0,00000095	0,08250534
Média Geral		0,51635	143,23	0,007122	0,0039	0,75702
CV(%)sub.		17,16	24,15	25,65	25,02	37,94
CV(%)par.		15,46	31,01	19,41	24,99	50,37

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 5A. Resumo da análise de variância da massa fresca (MF) e seca (MS) da parte aérea e do conteúdo de clorofila (CL) em plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a 100%, 70% ou 50% da luminosidade natural

FV	GL	QUADRADO MÉDIO DO RESÍDUO		
		MF	MS	CL
Bloco	3	2280,174 ^{ns}	173,7948 ^{ns}	5,914265 ^{ns}
Luz (L)	2	1373,790 ^{ns}	194,5512 ^{ns}	418,1371**
Erro a	6	3181,035	285,7680	3,148705
Época (E)	5	22608,44**	6722,567**	94,10818**
E * L	10	1202,171 ^{ns}	98,29623 ^{ns}	35,57107**
Resíduo	45	1783,232	118,2870	4,060113
Média Geral		172,52	46,991	38,764
CV(%)sub.		24,48	23,14	5,20
CV(%)par.		32,69	35,97	4,58

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 6A. Resumo da análise de variância do conteúdo de açúcares solúveis totais (AS), solúveis redutores (AR), solúveis não redutores (ANR), de amido (AM), e de partenólídeo por planta (PPL) e em porcentagem (PP) em plantas de *Tanacetum parthenium* crescidas a 100%, 70% ou 50% da luminosidade natural, com quadrado médio e significância do teste F com 5% de probabilidade

FV	GL	QUADRADO MÉDIO DO RESÍDUO					
		AS	AR	ANR	AM	PPL	PP
Bloco	3	19479,66 ^{**}	260,5458 ^{**}	17272,62 ^{**}	1010,904 ^{**}	31980,36 ^{ns}	0,05856453 ^{ns}
Luz (L)	2	396,6956 ^{ns}	28,08581 ^{ns}	226,2101 ^{ns}	209,7670 ^{ns}	20450,90 ^{ns}	0,1080780 ^{ns}
Erro a	6	204,1774	6,705395	123,6254	162,5410	76667,54	0,1591219
Época (E)	5	8080,397 ^{**}	1491,235 ^{**}	12253,22 ^{**}	5045,236 ^{**}	526358,8 ^{**}	2,275988 ^{**}
E * L	10	1486,108 [*]	98,13838 ^{ns}	1195,359 ^{ns}	562,9950 [*]	42559,38 ^{ns}	0,2864044 [*]
Resíduo	45	606,0988	49,58923	618,0609	143,5479	23000,60	0,09826905
Média Geral		92,055	26,986	65,892	38,695	461,37	1,085
CV(%)sub.		26,74	26,09	37,73	30,96	32,87	28,87
CV(%)par.		15,52	9,59	16,87	32,94	60,01	36,74

^{*}, ^{**} e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 7A. Densidade de tricomas tectores e glandulares médias de plantas de *T. parthenium* crescidas nas condições de pleno sol (0% de sombreamento), 30% e 50% de sombreamento

Variável	Equação
Densidade de T. tectores	Y= 3,23
Densidade de T. glandulares	Y = 6,19

CAPÍTULO 4. Homeopatia em *T. parthenium*

Experimento 1.

Quadro 8A. Resumo da análise de variância da altura (H) e do número de folhas (NF) das plantas de *Tanacetum parthenium* tratadas com *Arnica montana*, escala decimal

FV	GL	Quadrado médio do resíduo	
		H	NF
Homeopatia (Hp)	5	410,7493 ^{ns}	6817,587 ^{ns}
Adubação (Ad)	1	23,92014 ^{ns}	29060,59 ^{**}
Hp * Ad	5	60,69930 ^{ns}	2196,203 ^{ns}
Resíduo (a)	36	269,4977	4411,573
Dias (D)	5	33485,63 ^{**}	188041,2 ^{**}
D * Hp	25	55,94306 [*]	495,3234 ^{ns}
D * Ad	5	19,75972 ^{ns}	2554,487 ^{**}
D * Ad * Hp	25	13,86889 ^{ns}	286,7436 ^{ns}
Resíduo	180	34,61708	453,4477
Média Geral		53,767	171,00
CV(%) subparcela		10,94	12,45
CV(%) parcela		30,53	38,84

^{*}, ^{**} e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 9A Resumo da análise de variância da massa fresca da parte aérea das plantas (MF), número de inflorescências (NI) e tempo necessário para a emissão de botões florais (TM) das plantas de *Tanacetum parthenium* tratadas com *Arnica montana*, escala decimal

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo		
		MF	NI	TM
Homeopatia (Hp)	5	6745,167 [*]	7020,483 [*]	62,5000 [*]
Adubação (Ad)	1	75503,12 [*]	4256,333 [*]	75,0000 ^{**}
Hp * Ad	5	1370,383 ^{ns}	2245,633 ^{**}	7032,8000 [*]
Resíduo	36	1198,261	311,2500	11,68056
Média Geral		273,16	76,792	46,000
CV(%)		12,67	22,97	7,43

^{*}, ^{**} e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 10A Resumo da análise de variância da porcentagem de partenólídeo, em relação a massa seca da parte aérea (PAR), massa seca da parte aérea (MS) e conteúdo de partenólídeo por planta, em relação a massa seca total da parte aérea das plantas de *T. parthenium* tratadas com Arnica decimal

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo		
		PAR	MS	PPL
Homeopatia (Hp)	5	274,4997	620,1696	177210000
Adubação (Ad)	1	0,1088978 ^{ns}	5508,359 ^{**}	41328690
Hp * Ad	5	9,397474 ^{ns}	161,5742 [*]	20038550 [*]
Resíduo	24	9,862546	53,62311	
Média Geral		8,7306	95,196	7898,2
CV(%)		35,97	7,69	33,72

^{*}, ^{**} e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Experimento 2

Quadro 11A Resumo da análise de variância da altura (H) e número de folhas (NF) das plantas de *T. parthenium* tratadas com Arnica centesimal

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo	
		H	NF
Homeopatia (Hp)	5	272,4194 ^{ns}	3560,847 ^{ns}
Adubação (Ad)	1	77,50127 ^{ns}	24494,22 [*]
Hp * Ad	5	143,3604	3712,380 ^{ns}
Resíduo (a)	36	190,7429	3432,344
Dias (D)	5	31853,60 ^{**}	208849,4 ^{**}
D * Hp	25	27,88789 ^{ns}	1289,502 ^{**}
D * Ad	5	12,77917 ^{ns}	4117,064 ^{**}
D * Ad * Hp	25	30,41334 ^{ns}	1079,152 [*]
Resíduo	180	29,53660	453,3744
Média Geral		50,012	165,69
CV(%)sub.		10,86	12,85
CV(%)par.		27,61	35,35

^{*}, ^{**} e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 12A Resumo da análise de variância das variáveis porcentagem de partenólídeo, em relação a massa seca da parte aérea (PAR), massa seca da parte aérea (MS) e teor de partenólídeo por planta de *Tanacetum parthenium*, em relação a massa seca da parte aérea (PPL)

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo		
		PAR	MS	PPL
Homeopatia (Hp)	5	149,4859	141,4414 ^{ns}	126998800
Adução (Ad)	1	13,77647 ^{ns}	6441,398 ^{**}	279311750 ^{ns}
Hp * Ad	5	12,50658 ^{ns}	20,81045 ^{ns}	16526800 ^{ns}
Resíduo	24	12,97775	91,35575	13013780
Média Geral		10,534	90,815	9493,1
CV(%)		34,19	10,52	38,00

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Quadro 13A. Resumo da análise de variância da massa fresca (MF), do número de inflorescências (NI) e do tempo necessário para emissão dos botões florais (TM) das plantas de *Tanacetum parthenium*

FV	GL	Quadrado médio do resíduo		
		MF	NI	TM
Homeopatia (Hp)	5	2777,262 ^{ns}	4113,333	14,92083 ^{ns}
Adução (Ad)	1	86468,97 [*]	24,08333 ^{ns}	13,02083 ^{ns}
Hp * Ad	5	506,0413 ^{ns}	370,4833 [*]	3,820833 ^{ns}
Resíduo	36	1184,235	65,95834	36,42361
Média Geral		266,46	37,917	52,521
CV		12,91	21,41	11,49

*, ** e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Experimento 3

Quadro 14A. Resumo da análise de variância da altura (H), número de folhas (N), conteúdo de clorofila (CL), e número de inflorescências (NI) nas plantas de *Tanacetum parthenium*

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo			
		H	N	CL	NI
Bloco (B)	3	0,01840382 ^{**}	1521,788 ^{**}	7,783055 ^{ns}	129,2049 ^{ns}
Stres (St)	1	0,7297592 [*]	29575,26 ^{**}	647,9199 ^{**}	2450,260 ^{**}
Homeopatia (Hp)	2	0,001904163 ^{ns}	9,885417 ^{ns}	23,54954 ^{ns}	50,37500 ^{ns}
Hp * St	2	0,002637499 ^{ns}	149,1354 ^{ns}	19,32942 ^{ns}	81,54166 ^{ns}
Resíduo (a)	15	0,006116319	420,8715	14,71106	165,0965
Época (E)	3	0,4361205 ^{**}	52747,87 ^{**}	139,4970 ^{**}	2292,538 ^{**}
E * St	3	0,01548715 [*]	529,5660	552,9745 ^{**}	2082,927 ^{**}
E * Hp	6	0,002565278 ^{ns}	108,7882 ^{ns}	19,15392 ^{ns}	27,31944 ^{ns}
E * Hp * St	6	0,004073611 ^{ns}	282,3160 ^{ns}	33,76612 ^{**}	52,37500 ^{ns}
Resíduo	54	0,004241087	161,0151	10,08612	147,1609
Média Geral		0,29385	70,427	46,029	5,2813
CV(%)sub.		22,16	18,01	6,89	229,70
CV(%)		26,61	29,12	8,33	243

^{*}, ^{**} e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F,

Quadro 15A . Resumo da análise de variância da massa fresca (MF) e conteúdo de prolina (PRO) nas plantas de *T. parthenium*

FV	GL	Quadrado Médio do Resíduo	
		MF	PRO
Bloco (B)	3	2920,652 ^{**}	0,3268395 ^{ns}
Stres (St)	1	31246,72 ^{**}	254,7751 ^{**}
Homeopatia (Hp)	2	23,93332 ^{ns}	1906,797 ^{ns}
Hp * St	2	36,19089 ^{ns}	971,4277 ^{**}
Resíduo (a)	15	523,1036 ^{**}	0,1337212
Época (E)	3	17477,16 ^{**}	4634,320 ^{ns}
E * St	3	615,2026	2602,832 ^{ns}
E * Hp	6	80,21038 ^{ns}	533,5847 ^{**}
E * Hp * St	6	144,8270 ^{ns}	818,7312 ^{**}
Resíduo	54	119,3591	0,1286079
Média Geral		48,562	26,757
CV(%)sub.		22,497	1,3403
CV(%)par.		47,057	1,367

^{*}, ^{**} e ^{ns} indicam significância a 5%, 1% ou não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.