

UFRB

Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS, AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

JAMILE FERNANDES LIMA

**ANATOMIA FOLIAR DE *Ocimum gratissimum* L., COM
ÊNFASE NA CARACTERIZAÇÃO DOS TRICOMAS
SECRETORES E CONTEÚDO DO ÓLEO ESSENCIAL**

**Cruz das Almas
2010**

JAMILE FERNANDES LIMA

**ANATOMIA FOLIAR DE *Ocimum gratissimum* L., COM
ÊNFASE NA CARACTERIZAÇÃO DOS TRICOMAS
SECRETORES E CONTEÚDO DO ÓLEO ESSENCIAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Fabiano Machado Martins.
Co-orientadora: Profa. Franceli da Silva.

**Cruz das Almas - BA
2010**

Ficha Catalográfica

L732 Lima, Jamile Fernandes.
Anatomia foliar de *Ocimum gratissimum* L., com ênfase na caracterização dos tricomas secretores e conteúdo do óleo essencial. / Jamile Fernandes Lima. – Cruz das Almas - Ba, 2010. 53f.; il.

Orientador: Fabiano Machado Martins.
Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Botânica. 2.Plantas oleaginosas – Recôncavo(BA).
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 633.85

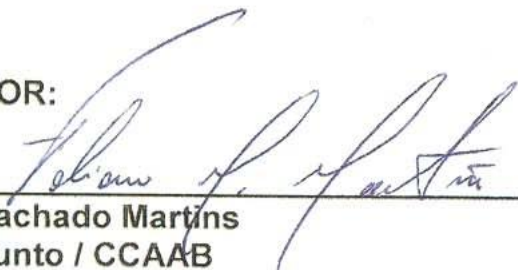
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS, AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS

ANATOMIA FOLIAR DE *Ocimum gratissimum* L., COM ÊNFASE NA
CARACTERIZAÇÃO DOS TRICOMAS SECRETORES E CONTEÚDO DO
ÓLEO ESSENCIAL

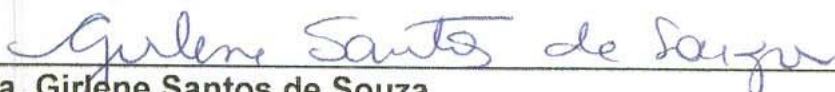
JAMILE FERNANDES LIMA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO AO CURSO DE
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, CENTRO DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS, UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RECÔNCAVO DA BAHIA, COMO REQUISITO PARA OBTENÇÃO DO GRAU
DE BACHAREL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS.


APROVADA POR:



Dr. Fabiano Machado Martins
Professor Adjunto / CCAAB
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Dra. Gislene Santos de Souza
Professora Adjunto / CCAAB
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Dr. Daniel Melo de Castro
Professor Adjunto / CCAAB
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

CRUZ DAS ALMAS – BA, DEZEMBRO DE 2010.

Aos meus pais Jaime e Juscelina, que sonharam este sonho junto comigo e por isso se tornou realidade.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, mestre supremo, que com sua bondade e misericórdia acompanhou-me por toda esta jornada, dando-me saúde, sabedoria e discernimento para desempenhar meu trabalho e alcançar meus objetivos.

A minha querida família pelo amor incondicional. A minha mãe Juscelina pela ternura e cuidado que sempre teve por mim, fazendo-me ter a certeza que esteve sempre presente na minha vida; ao meu pai Jaime pela dedicação e incentivo fazendo de tudo que estava em seu alcance para poder me ajudar em tudo que precisasse; a minha tia Ana pelo apoio e carinho de mãe que me faz sentir cada vez mais sua filha; a minha irmã Amanda pela admiração e por acreditar em mim com seu jeito pitoresco de ser demonstrando sempre o seu amor; ao meu namorado Helton pelo companheirismo e confiança que depositou sobre mim não deixando a distância nos separar.

Ao meu orientador professor Fabiano Machado Martins pela amizade que permitiu que fosse construída, ao carinho sempre demonstrado nestes três anos de orientação, as conversas que entre um chimarrão e outro tínhamos resultando em risadas e em muito aprendizado. Acredito que não só eu aprendi com ele, mas, também aprendeu comigo. Agradeço também pela sua disponibilidade para dedicar-se aos trabalhos realizados comigo, seja em questão de tempo ou investimento financeiro para que os projetos fossem desenvolvidos. E por fim pela confiança e simplicidade que dirigiu a mim nesta minha vida “ufrbística”. Nunca esquecerei seu apoio na minha vida.

A minha co-orientadora professora Franceli da Silva pela simpatia e disponibilidade de me co-orientar neste trabalho contribuindo com sua experiência em pesquisa para realização de uma parte do projeto.

Ao professor Márcio Lacerda Lopes Martins pela contribuição taxonômica, sugestões e conversas.

A professora Angélica Maria Lucchesi, responsável pelo Laboratório de Produtos Naturais (LAPRON) da Universidade Estadual de Feira de Santana, por permitir desenvolver parte do meu trabalho de conclusão de curso neste laboratório.

A Simone Teles, mestre em Ciências Agrárias pela UFRB, que com gentileza e amizade auxiliou-me no desenvolvimento do projeto no LAPRON.

Aos colegas Valter e Carlos Henrique (estudantes de agronomia) pelo auxílio nas coletas do material botânico.

Aos amigos que não deixei em Salvador porque os carrego no coração, em especial a Denise Carla e as Irs. Ancilas, obrigada por demonstrarem seu afeto e admiração por mim.

Aos amigos que fiz em Cruz das Almas, Juliane Cardoso que me acompanhou no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFRB trocando experiências por todos estes anos, na alegria e na tristeza, regada por muitas conversas; “as meninas da vivenda” Naiane Silva, Itainá Paixão e Mariana Pereira, que me intitularam de “agregada” por causa do aconchego que me ofereceram em sua residência com todo o carinho que é recíproco; a Welder Souza “o bendito entre as mulheres” meu meigo amigo co-dominante que muito me acompanhou no trajeto de casa.

Agradeço aos almeidenses na figura de minha avó Loura, pela acolhida em seu município e pelo apoio ao desenvolvimento do meu trabalho.

A todos os meus professores que me ofereceram um bem que ninguém poderá retirar de mim, o conhecimento, contribuindo para minha formação profissional.

Aos colegas de graduação do curso de Ciências Biológicas que vivenciaram comigo todo o processo de construção da UFRB, passando pelas dificuldades e pelas gratificações (se houveram) por ser a primeira turma deste curso.

Aos funcionários da UFRB, em especial do Restaurante Universitário, que com seu trabalho demonstravam a amizade que era construída ao longo dos anos com os alunos que ali se alimentavam.

Estes agradecimentos são poucos diante a participação de todos nesta vitória, mas, aceitem este **MUITO OBRIGADO** por contribuírem para meu crescimento humano e profissional.

Você não sabe
O quanto eu caminhei
Prá chegar até aqui
Percorri milhas e milhas
Antes de dormir
Eu nem cochilei
Os mais belos montes
Escalei...
(Cidade Negra)

Anatomia foliar de *Ocimum gratissimum* L., com ênfase na caracterização dos tricomas secretores e conteúdo do óleo essencial: Este trabalho tem como objetivo descrever a anatomia foliar de *Ocimum gratissimum* L. com ênfase na caracterização das estruturas secretoras responsáveis pela produção de óleos essenciais e analisar a composição química utilizando testes histoquímicos. O material para o estudo foi coletado no Recôncavo da Bahia: nos municípios Conceição do Almeida e Cruz das Almas. Para o estudo anatômico o material botânico foi fixado em FAA₅₀ (GL), SFF e FNT, e montados em lâminas permanentes. Para os testes histoquímicos secções transversais foram realizadas a mão livre. O óleo essencial da espécie estudada foi extraído por arraste de vapor. Destacam-se na folha tricomas tectores, glandulares dos tipos peltados e capitados, estômatos diacíticos em ambas as faces, mesófilo dorsiventral, colênquima na nervura principal e feixe vascular colateral. Os tricomas glandulares de *O. gratissimum* desenvolvem-se nos primórdios foliares e nas folhas completamente expandidas os tricomas imaturos são ausentes. As principais etapas do desenvolvimento dos tricomas são: aumento do volume da célula protodérmica, posterior divisão periclinal, divisão periclinal da célula apical formada e formação da cabeça secretora. A secreção dos tricomas peltados de *O. gratissimum* tem natureza lipídica e trata-se de um terpeno, atestada pelos resultados positivos com os compostos lipofílicos. Não houve diferença estatística significativa nos teores de óleo do material coletado nos dois municípios. As características anatômicas e histoquímicas são comuns àqueles descritos para a família, podendo ser utilizados como diagnóstico para sua identificação. Os ambientes em que amostras foram coletadas oferecem condições semelhantes para a produção de óleo essencial.

Palavras-chave: quioiô, ontogênese, histoquímica.

Anatomy of the leaf of *Ocimum gratissimum* L. with emphasis in the characterization of the secretory trichomes and content of the essential oil: The objective of this study was to describe the anatomy of the leaf of *Ocimum gratissimum* L. with emphasis in the characterization of the secretory structure responsible for the production of essential oils and analyses their chemistry composition using histochemical tests. The samples were collected in the Reconcavo of Bahia: in Conceição do Almeida city and Cruz das Almas city. Botanic material was fixed in FAA₅₀ (GL), SFF and FNT e mounted in permanent lamina for the anatomic study. Transversal sections were realized to free hand for histochemistry tests. Essential oil of species studied was extracted by water-distillation. It observed in leaf non-glandular trichomes and peltate and capitate glandular trichomes, diacytic stomatas on both epidermis faces and dorsiventral mesophyll, collenchyma in the midrib and collateral vascular bundle. Glandular trichomes of *O. gratissimum* were development in new leaves and in totally expanded leaves the immature trichomes are absentee. The major steps of the development of the trichomes are: extend of volume of cell protodermic, later periclinal division, periclinal division of upper cell formed and forming os secretory head. Secretion peltate trichomes of *O. gratissimum* have lipidic nature and it was a terpenoid compound certificated by positive results with the lipophilic compounds. There wasn't statistic significative difference in tenor of oil of samples collected in two cities. Anatomic and histochemistry characteristics are commons to that registered for the family can be utilized as diagnostic to their identification. Environment in witch the samples were collected offers similar condition for production of essential oil.

Key words: quioiô, ontogeny, histochemistry

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Mapa de distribuição de <i>Ocimum</i>	21
Figura 2 A-D - Secções paradérmicas da lâmina foliar de <i>Ocimum gratissimum</i> L.	49
Figura 2 A - Vista frontal da face adaxial: células epidérmicas com paredes anticlinais sinuosas e estômatos diacíticos.	49
Figura 2 B -Vista frontal da face abaxial apresentando estômatos diacíticos mais freqüentes.	49
Figura 2 C - Vista frontal da cabeça secretora tetracelular do tricoma peltado numa cavidade subepidérmica.	49
Figura 2 D - Vista frontal da cabeça secretora bicelular do tricoma capitado....	49
Figura 3 A-G. Secções transversais da folha e do pecíolo de <i>O. gratissimum</i> ..	50
Figura 3 A- Secção transversal do pecíolo.	50
Figura 3 B- Secção transversal da nervura central.	50
Figura 3 C - Detalhe do feixe vascular.	50
Figura 3 D - Mesofilo dorsiventral.	50
Figura 3 E - Detalhe do parênquima paliçádico.	50
Figura 3 F - Estômato e câmara subestomática da face adaxial.	50
Figura 3 G - Estômato e câmara subestomática da face abaxial.	50
Figura 3 H-I. Fotomicrografias dos tricomas glandulares de <i>O. gratissimum</i> . .	51
Figura 3 H - Detalhe das células secretoras com núcleo e conteúdo densos dos tricomas capitados.	51
Figura 3 I - Detalhes do tricoma glandular peltado evidenciando a cavidade subcuticular repleta de secreção.	51
Figura 4 A-F. Ontogenia dos tricomas secretores de <i>O. gratissimum</i> (corte transversal).	52
Figura 4 A - Projeção da célula protodérmica.	52
Figura 4 B - Tricoma com duas células.	52

Figura 4 C - Divisão periclinal da célula superior.	52
Figura 4 D - Divisões anticlinas da cabeça secretora.	52
Figura 4 E - Divisões anticlinas da cabeça secretora.....	52
Figura 4 F - Descolamento da cutícula das paredes apicais das células secretoras.	52
Figura 5 A-D. Testes histoquímicos de tricomas glandulares peltados de <i>O. gratissimum</i>	53
Figura 5 A – Secreção <i>in natura</i> no espaço subcuticular da cabeça do tricoma.....	53
Figura 5 B – Reação positiva ao Negro de Sudão B.	53
Figura 5 C – Reação positiva ao Vermelho Sudão IV.	53
Figura 5 D – Reação positiva ao Sulfato Azul de Nilo.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação dos testes histoquímicos realizados para identificação do material secretado pelos tricomas de *Ocimum gratissimum*.31

Tabela 2 - Caracterização histoquímica dos tricomas secretores de *O. gratissimum*.39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Plantas medicinais.....	17
2.2 Família Lamiaceae.....	19
2.3 Gênero <i>Ocimum</i>	20
2.4 Espécie <i>Ocimum gratissimum</i> L.	23
2.5 A folha e sua estrutura anatômica.....	24
2.6 Metabólitos secundários.....	26
2.7 Óleos essenciais.....	27
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1 Anatomia foliar.....	29
3.2 Ontogênese dos tricomas.....	30
3.3 Caracterização histoquímica.....	30
3.4 Análise do óleo essencial.....	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1 Anatomia foliar.....	33
4.2 Ontogênese dos tricomas glandulares.....	36
4.3 Caracterização histoquímica.....	38
4.4 Análise do óleo essencial.....	40
5 CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas na cura de doenças não é recente. Pode ser que a utilização de plantas como medicamento seja tão antiga como a existência do próprio ser humano. Elas são bastante aceitas por questões históricas, culturais, econômicas ou simplesmente por serem produtos naturais e por isso existem programas de saúde que incentivam uso das plantas medicinais como complementares ao tratamento. Este acompanhamento é importante, pois, estas plantas possuem princípios ativos assim como os remédios industrializados e precisam que o seu uso seja eficaz e seguro.

A família Lamiaceae é uma das muitas que possuem espécies que oferecem propriedades terapêuticas. As espécies desta família dispõem de princípios ativos que são utilizados em larga escala também pela indústria, seja como aromatizantes, repelentes, perfumaria, inseticidas, fármacos, ou seja, oferece uma gama de oportunidade para a produção industrial.

Com características peculiares como flores bilabiadas e aroma marcante as Lamiaceae são facilmente identificadas. No entanto, estas características não são encontradas para a distinção de algumas espécies, principalmente as pertencentes ao gênero *Ocimum* L.

A fácil naturalização e hibridização do gênero levam uma mesma espécie a ter variações morfológicas e conseqüentemente ser confundida com outras. A população normalmente denomina estas espécies de alfavaca juntamente com um adjetivo. No Recôncavo da Bahia o gênero recebe diversos nomes. Os mais encontrados são quioiô, quioiô-verdadeiro, quioiô-bravo e alfavaca. Portanto, a recomendação da OMS é relevante, visto que o levantamento de plantas utilizadas na medicina popular levará a identificação destas garantindo seu uso.

Para a identificação correta do *Ocimum gratissimum* L. outras áreas da botânica como a anatomia vegetal e a fitoquímica auxiliam bastante. Os óleos essenciais das espécies de Lamiaceae podem ser utilizados como marcadores taxonômicos, visto que apesar do óleo essencial ser uma substância formada

por 100 ou mais compostos, existe alguns que estão em maior quantidade em cada espécie.

As folhas, além de exercerem funções primordiais na planta, como a respiração e fotossíntese, é neste órgão mais especificamente em apêndices deste, os tricomas, que são armazenados alguns produtos do metabolismo secundário da planta. A fricção das folhas exala o odor geralmente agradável que as secreções armazenadas possuem. Isto acontece devido ao rompimento da cutícula das cabeças secretoras de tricomas glandulares, que possuem óleo essencial.

A espécie *O. gratissimum* L., possui em suas folhas a presença de tricomas tectores e glandulares que contém óleo essencial com um aroma marcante. A extração de óleo essencial por arraste a vapor (método mais comum utilizado para este processo), resulta em uma essência de coloração levemente amarelada, pouco viscosa e com aroma idêntico ao do material fresco.

A espécie apresenta estruturas anatômicas que se encaixam perfeitamente nos padrões da família, desde a presença de feixes vasculares nas projeções do pecíolo, a presença de diferentes tricomas na epiderme, como o padrão ontogênico destes.

Com o objetivo de descrever a anatomia foliar e caracterizar os tricomas secretores e o conteúdo do óleo essencial, espera-se que as características anatômicas e fitoquímicas estudadas neste trabalho, possam fornecer subsídios que contribuam para melhor conhecimento da espécie *O. gratissimum*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantas medicinais

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) em sua Resolução – RDC nº 10, de 9 de Março de 2010, planta medicinal é uma espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos.

A utilização de plantas medicinais, conhecida como fitoterapia, esteve presente ao longo da história da humanidade que sempre usou plantas tanto na sua alimentação quanto com fins medicinais. O conhecimento sobre plantas medicinais depende da observação cuidadosa dos efeitos de certos alimentos e condimentos, dando ideia de como utilizá-los em caso de doenças; da observação das atitudes de animais com as plantas, inspirando o ser humano a utilizar tais vegetais como elementos de cura; e a observação das características próprias de uma planta e a formulação de idéias acerca das suas qualidades, seguidas da experimentação dos seus efeitos (ALMASSY Jr. et al., 2005).

A planta medicinal quando bem escolhida e usada corretamente não difere do medicamento medicinal quanto ao princípio ativo. Tendo como base este conceito a Organização Mundial de Saúde (OMS), recomenda aos órgãos responsáveis pela saúde pública de cada país realizarem levantamentos regionais das plantas usadas na medicina popular tradicional e as identifiquem botanicamente; estimulem e recomendem o uso daquelas que tiverem comprovada sua eficácia e segurança terapêutica; desaconselhem o emprego das práticas da medicina popular consideradas inúteis ou prejudiciais; desenvolvam programas que permitam cultivar e utilizar as selecionadas na forma de preparações dotadas de eficácia, segurança e qualidade (LORENZI e MATOS, 2008).

Estima-se atualmente que em muitos países em desenvolvimento uma grande parte da população depende muito de praticantes tradicionais e plantas medicinais para atender às necessidades de cuidados de saúde primários. Embora a medicina moderna esteja disponível nestes países, os medicamentos

fitoterápicos, muitas vezes são mantidos devido a popularidade por razões históricas e culturais. Ao mesmo tempo, muitas pessoas nos países desenvolvidos começaram a recorrer às terapias alternativas ou complementares, incluindo plantas medicinais (OMS, 1999).

As práticas médicas populares utilizam os elementos existentes da natureza terapêutica. Aproximadamente 80% dos habitantes da Terra dependem desta medicina tradicional nos seus cuidados básicos de saúde, e a maior parte das terapias tradicionais envolvem uso de extratos ou seus princípios ativos (RODRIGUES et al., 2002).

No Brasil a utilização de plantas no tratamento de doenças foi influenciada fundamentalmente pelas culturas indígena, africana e europeia. Os índios utilizavam as plantas medicinais de uma forma mística em que o pajé fazia uso de plantas alucinógenas com o objetivo de sonhar com o espírito que lhe revelaria a erva e o procedimento para cura do enfermo, também observavam animais que faziam uso de plantas como elemento de cura, exemplos de plantas utilizadas pelos índios são o jaborandi (*Pilocarpus jaborandi*), o guaraná (*Paullinia cupana*), o taiuiá (*Cayaponia* spp.) e a erva-bugre (*Casearia sylvestris*); para os africanos quando alguém adoecia era porque estava possuído por “espírito mau” e este era expulso pelo curandeiro por meio de exorcismo e uso de plantas. O guiné (*Petiveria alliacea*) e o melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) foram trazidos com esse fim. A influência europeia no Brasil iniciou-se com a chegada dos jesuítas, que vieram catequizar os indígenas, trazendo na bagagem várias plantas medicinais como a camomila (*Chamomilla recutita*), melissa (*Melissa officinalis*), malva (*Malva sylvestris*) e funcho (*Foeniculum vulgare*) (MARTINS et al., 2003; ALMASSY Jr. et al., 2005).

Lorenzi e Matos (2008) após levantamento em todo território brasileiro das espécies vegetais mais utilizadas na medicina popular apresentam a família Lamiaceae como a terceira com maior número de espécies medicinais.

2.2 Família Lamiaceae

A família Lamiaceae que tem como sinônimo Labiatae Juss., segundo Souza e Lorenzi (2005), possui distribuição cosmopolita e aproximadamente 300 gêneros e 7500 espécies, ocorrendo no Brasil 26 gêneros e cerca de 350 espécies. Para Barroso (1991) esta família é representada por 150 gêneros e 2800 espécies também de ampla distribuição. Esta autora enfatiza sua dispersão nas regiões do Mediterrâneo e no Oriente, e nas regiões montanhosas subtropicais, afirmando que esta família compreende 200 gêneros com 3200 distribuídas em todo o mundo. Joly (2001) também afirma que o maior centro de dispersão está localizado na região do Mediterrâneo e do Oriente Próximo. É uma das famílias mais importante do ponto de vista etnobotânico e econômico (ALBUQUERQUE e ANDRADE, 1998).

Este táxon possui poucas árvores de pequeno porte, sendo mais frequentes como ervas anuais ou perenes, subarbustos ou arbustos aromáticos e com ramos quadrangulares (SOUZA e LORENZI, 2005; BARROSO, 1991; GEMTCHÚJNICOV, 1976; WEBERLING e SCHWANTES, 1981).

As folhas são descritas por Souza e Lorenzi (2005) como opostas ou raramente verticiladas ou alternas, comumente simples, sem estípulas e serreadas. Barroso (1991) acrescenta que as folhas possuem limbo mostrando todas as transições de bordo inteiro, denteado, lobado ou partido. O cheiro intenso das folhas é destacado por Joly (2001) e também por Weberling e Schwantes (1981) o qual afirma que assim como os caules as folhas são densamente cobertas por tricomas glandulares ou escamas que produzem essências, que desprendem odor agradável quando as folhas são friccionadas.

As inflorescências ficam muitas vezes tão intensamente agrupadas que as flores parecem pseudoverticilos florais densos nas axilas foliares (WEBERLING e SCHWANTES, 1981). Cada pseudoverticilo floral dispõe-se em pares opostos constituindo inflorescências cimosas compostas (BARROSO, 1991). As flores em geral vistosas (reunidas nas inflorescências) são diclamídeas, bissexuadas, pentâmeras, gamopétalas e gamossépalas, 2-4 estames, ovário súpero, elas são fortemente zigomorfas e bilabiadas (SOUZA e LORENZI, 2005; JOLY 2001). Segundo Barroso (1991) o cálice tubuloso com bordo bilabiado oferece um bom

caráter para identificação dos gêneros. E como é citado por Weberling e Schwantes (1981) o nome Labiatae, ou labiadas, refere-se à presença de dois lábios nas flores das plantas desta família. Fruto em geral baga ou esquizocarpo (SOUZA e LORENZI, 2005; BARROSO, 1991).

Poucos são os gêneros indígenas da flora brasileira e são muitos que foram introduzidos nelas como plantas medicinais, produtoras de óleos essenciais, utilizadas como condimentos ou ornamentais (BARROSO, 1991). Dentre os gêneros cultivados no Brasil pode-se destacar várias espécies, como erva-cidreira (*Melissa officinalis*), alfavaca (*Ocimum basilicum*), o alfavacão (*Ocimum gratissimum*), o boldo-brasileiro (*Plectranthus barbatus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), hortelã-pimenta (*Mentha* sp.), da qual se extrai o mentol e também é utilizada na medicina caseira, manjerona (*Origanum majorana*), orégano (*Origanum vulgare*), tomilho (*Thymus vulgaris*), poejo (*Mentha pulegium*) e as cultivadas pelas flores sálvia (*Salvia splendens*), com suas flores rosadas, lavanda (*Lavandula angustifolia*) e o patchuli (*Pogostemum* sp.) que produzem óleo essencial de larga aplicação (JOLY, 2001; SOUZA e LORENZI, 2005).

2.3 Gênero *Ocimum*

Segundo Paton (1992) o gênero *Ocimum* contém cerca de 30 espécies encontradas nos trópicos do Velho e do Novo Mundo. Algumas espécies são amplamente cultivadas em regiões mais temperadas, sendo de uso culinário e medicinal.

No Brasil, as espécies mais importantes na cultura tradicional são justamente as que possuem origem no Velho Mundo, assimiladas pela cultura brasileira graças aos africanos que chegaram ao país na condição de escravos (ALBUQUERQUE e ANDRADE, 1998).

Anteriormente *Ocimum* incluía mais de uma centena de espécies, mas tem sido gradualmente desmembrado para formar um número menor de gêneros relacionados, como por exemplo *Becium* Lind. Hoje *Ocimum* contém

aproximadamente quarenta espécies, que são nativas nos trópicos da Ásia, África e América (Figura 1) (HARLEY et al., 1992).

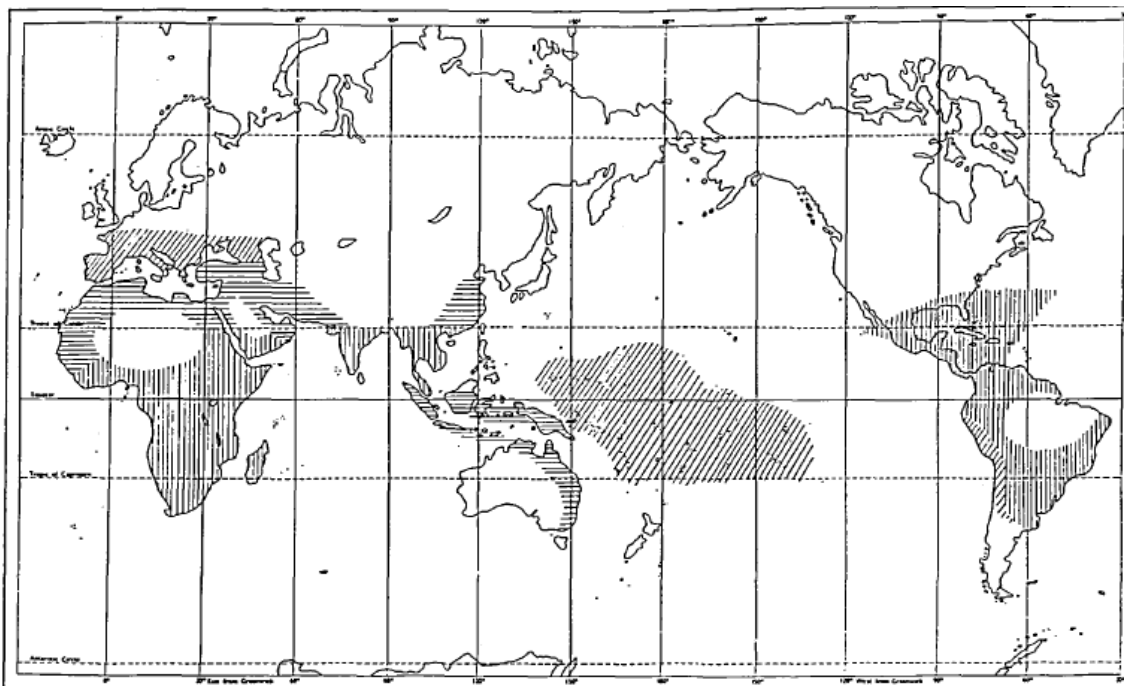


Figura 1. Mapa de distribuição de *Ocimum*. Sombreamento vertical = provavelmente populações naturais. Sombreamento horizontal = provavelmente naturalizado de cultivo, mas talvez natural. Sombreamento diagonal = Cultivado, frequentemente naturalizado (HARLEY et al., 1992).

As plantas deste gênero são perenes, de hábito herbáceo ou arbustivo, aromáticas com caules glabros, pubescentes ou tomentosos, com tricomas simples ou estrelados; suas folhas são opostas, simples, pecioladas, algumas vezes subsésseis, verdes; a inflorescência laxa ou congesta, verticilos com 6 flores e brácteas de tamanhos variados; as flores são hermafroditas pediceladas apresentando cálice bilabiado, com lábio superior arredondado, côncavo, decorrente sobre o tubo, possui corola bilabiada, tubular inserida ou não no cálice, glabra ou pilosa, branca, branco-esverdeada, rosa ou levemente púrpura, seus quatro estames podem ser todos férteis ou dois estéreis exsertos, ocasionalmente o par superior com apêndice pilosos ou glabros próximos da base, anteras dorsifixas, o ovário é glabro ou escassamente piloso, tetralobado, com o estigma bifido no ápice; as núculas são glabras ou escassamente pilosas, às vezes mucilaginosas de cor castanho a negro (ALBUQUERQUE e ANDRADE, 1998).

Por se tratar de plantas com uma larga história de cultivo, algumas espécies apresentam um grande polimorfismo na forma e no tamanho das folhas, estrutura e tamanho da inflorescências e variação na pigmentação púrpura em toda planta. As formas de cultivo de *O. americanum*, por exemplo, mostram uma grande variabilidade na coloração púrpura. O mesmo acontece com o aroma, que varia qualitativamente e na intensidade dentro de algumas espécies. Encontram-se também variações morfológicas que se manifestam na ramificação das folhas, inflorescências, flores e frutos em *O. basilicum*, *O. gratissimum* e *O. americanum* (MORENO, 1987 *apud* ALBUQUERQUE e ANDRADE, 1998).

A nomenclatura botânica correta para as espécies e variedades do gênero *Ocimum* da família Lamiaceae, da qual o manjericão comercial está incluído, é de grande interesse, uma vez que mais de 60 espécies e formas têm sido relatadas, sendo questionável a verdadeira identidade botânica do manjericão citado em algumas literaturas. A dificuldade em classificar mais de 60 variedades de *Ocimum basilicum* L. provavelmente se deve à ocorrência de polinização cruzada facilitando hibridações, resultando em grande número de subespécies, variedades e formas (BLANK et al., 2004).

O gênero *Ocimum* inclui espécies de “basil” (nome comum em inglês de várias espécies de *Ocimum*), amplamente cultivadas como ervas aromáticas, sendo a espécie provavelmente mais conhecida *O. basilicum* (HARLEY et al., 1992).

Alfavaca é o nome com que se designa a maioria das espécies de *Ocimum*. Possui origem européia, mas, foi difundido no Brasil pelos africanos após sua imigração. Adjetivações destes nomes podem em alguns casos, individualizar os *taxa*, mas com limitações regionais. No Brasil *O. basilicum* é conhecido como alfavaca-cheirosa, alfavaca-da-américa, alfavaca-de-vaqueiro, alfavaca-do-mato, alfavacão, basilico-grande, basilicão, erva-real, folhas-largas-dos-cozinheiros, manjericão, manjericão-da-flor-branca, manjericão-da-folha-larga, quioiô, remédio-de-vaqueiro. *O. gratissimum*: alfavacão,alfava, alfavaca-cravo. *O. selloi*: elixir-paregórico, alfavaca-cheiro-de-anis, alfavaca, atoveran. *O. tenuiflorum*: tulási, alfavaca-da-índia, basílico-sagrado, manjericão-santo (LORENZI e MATOS, 2008).

2.4 Espécie *Ocimum gratissimum* L.

Conhecida como alfavaca, alfavaca-cravo, alfavacão e no Recôncavo da Bahia como quioiô, é um subarbusto aromático, ereto, com até um metro de altura, com origem do oriente e subespontâneo em todo o Brasil e do qual existem diversos quimiotipos. Apresenta folhas ovalado-lanceoladas, de bordos duplamente dentados, membranáceas, com 4 a 8 cm de comprimento. Suas pequenas flores são roxopálidas, dispostas em racemos paniculados eretos e geralmente em grupos de três, o fruto é uma pequena cápsula seca possuindo quatro sementes. Tem aroma forte e agradável que lembra o cravo-da-índia (LORENZI e MATOS, 2008).

O. gratissimum apresenta uma larga variabilidade morfológica, especialmente em relação ao indumento das folhas e inflorescências, o que torna difícil o uso destes caracteres como indicador taxonômico, utilizando metabólitos secundários, especialmente óleos essenciais, como marcadores taxonômicos, Vieira et al (2002) identificaram três tipos químicos de *O. gratissimum* (eugenol, timol e geraniol), os quais são possíveis de serem identificados pela análise organoléptica de cada acesso. Segundo o mesmo autor, metabólitos secundários, como os flavonóides e óleos essenciais, podem estar associados a alguns tratos morfológicos, e são úteis para compreender a variação existente dentro deste grupo.

Existem vários quimiotipos, como ocorre em outras espécies do mesmo gênero, sendo um quimiotipo muito comum o eugenol, que possui essa substância em maior quantidade na composição do óleo essencial (BIASI et al., 2009).

Os extratos voláteis de óleos essenciais de *O. gratissimum* evidenciam potencialidades alelopáticas inibitórias sobre a germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface em estudo realizado por Alves et al. (2004).

No óleo essencial extraído de *O. gratissimum* foram encontrados os seguintes compostos: 1,8 cineol, eugenol, metil-eugenol, timol, *pcimeno*, cis-ocimeno e cis-cariofileno, sendo que o eugenol foi indicado como responsável por inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. e *Proteus mirabilis* (NAKAMURA et al., 1999).

Nas práticas comuns da medicina caseira suas folhas são utilizadas na preparação de banhos antigripais, especialmente em crianças e, para tratar casos

de nervosismo e paralisia; são usadas também em chás como carminativos, sudoríficos e diuréticos; por seu sabor e odor semelhantes ao cravo-da-índia, é usado também como condimento em culinária (LORENZI e MATOS, 2008).

2.5 A folha e sua estrutura anatômica

Como o caule e a raiz, a folha compreende três sistemas de tecidos: o sistema dérmico, que se origina da protoderme, constitui a epiderme e reveste toda a superfície foliar; o sistema fundamental, que se origina do meristema fundamental e constitui o mesofilo da lâmina foliar e o córtex da nervura mediana e do pecíolo; e o sistema vascular, que se origina do procâmbio e constitui os tecidos vasculares das nervuras (APEZZATO-DA-GLÓRIA e CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

O tecido fundamental da folha ou mesofilo é especializado para a realização da fotossíntese. Isso é possível graças ao seu grande volume de espaços intercelulares e a presença de numerosos cloroplastos. O parênquima clorofiliano é totalmente permeado por numerosos feixes vasculares que são constituídos por xilema e floema os quais raramente estão expostos aos espaços intercelulares do mesofilo, pois estão envolvidas por células da bainha do feixe que controla o movimento de substâncias para dentro e para fora dos tecidos vasculares (RAVEN et al. 2007).

A epiderme é o tecido mais externo dos órgãos vegetais em estrutura primária, sendo substituída pela periderme em órgãos com crescimento secundário. Ela possui como a principal função o revestimento. A disposição compacta das células impede a ação de choques mecânicos, a invasão de agentes patogênicos e restringe a perda de água, além de outras importantes funções (APEZZATO-DA-GLÓRIA e CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

O suporte das folhas pode ser garantido pelo colênquima e esclerênquima, ou pela epiderme que também fornece considerável sustentação à folha. Os estômatos podem está presentes em ambos os lados da folha ou somente em um lado, que pode ser o superior, ou como é mais comum, o inferior, isto irá variar com base no

hábito da planta, se mesófitas, hidrófitas ou xerófitas. Assim como os estômatos, os tricomas também podem ocorrer em uma ou nas duas superfícies foliares (RAVEN et al. 2007).

Os apêndices de origem epidérmica, os tricomas, são bastante variáveis na sua estrutura e também são importantes para o diagnóstico taxonômico. As emergências e os acúleos apesar de também serem de origem epidérmica são classificados diferentemente dos tricomas (ESAU, 1974; APEZZATO-DA-GLÓRIA e CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

Os tricomas estão frequentemente presentes, facilmente observáveis, e muitas vezes podem ser utilizados como padrões de variação que se correlacionam com outras características do táxon sob investigação. A definição de tricomas varia de generalizado morfológicamente como 'pelos ou cerdas' a um pouco mais específico anatomicamente como um apêndice epidérmico de formas, estrutura e função diversas. Na maioria dos trabalhos anatômicos tricomas são distinguidos de emergências, que representa uma combinação de anexos epidérmicos e subepidérmicos (METCALFE e CHALK, 1979).

Apesar de terem sido amplamente utilizada para fins taxonômicos, seu significado adaptativo foi praticamente ignorado pelos evolucionistas e ecologistas. Tricomas também podem complementar a defesa química de uma planta por possuir glândulas que exalam terpenos, compostos fenólicos, alcalóides e outras substâncias que podem atuar como repelentes olfativos ou gustativos. Em alguns grupos de plantas, a proteção contra mamíferos de grande porte é alcançada pela presença de tricomas urticantes (LEVIN, 1973).

Os tricomas são classificados em categorias morfológicas. Appezzato-da-Glória e Carmello-Guerreiro (2006) classificam tricomas em tectores que podem ser unicelulares, simples, multicelulares (ramificados ou não); em mistos, constituídos por uma região ramificada não-glandular e uma região secretora multicelular; e em glandulares que estão envolvidos com secreção de substâncias como óleos, néctar, sais, resinas, mucilagem, sucos digestivos e água.

Embora os termos glandulares e tectores sejam comumente usados e convenientes para descrever os tricomas, eles realmente não dizem muito sobre a morfologia dos tricomas em si. Esses termos devem ser utilizados em conjunto com

as sub-categorias: papilas, simples (pequeno ou longo), de dois a cinco braços, estrelado (circular, multiangular, *porrect*, geminado, tufado), báscula (séssil, peltado, *porrect*), dendrítico (pouco ramificado, muito ramificado, ramificação terminal, ramificação medial, ramificação basal) ou tipos especializados (METCALFE e CHALK, 1979).

Os tricomas glandulares possuem uma cabeça unicelular ou multicelular, composta de células que produzem a secreção e que estão situadas na extremidade de um pedúnculo de células não-glandulares. As secreções eliminadas pelas células glandulares acumulam-se primeiro entre a parede celular e a cutícula. Mais tarde a cutícula rompe-se e a secreção é eliminada (ESAU, 1974).

O produto da secreção destes tricomas muitas vezes possui alta concentração de metabólitos secundários com atividade biológica de interesse para as indústrias de pesticidas, indústrias farmacêuticas, de aromatizantes e perfumaria (DUKE, 1994).

Os tricomas glandulares que secretam óleo essencial ocorrem em gêneros de muitas famílias com por exemplo Labiate, Solanaceae, Asteraceae, Geraniaceae. Além do óleo essencial outras substâncias podem ser secretadas (FAHN, 1979).

2.6 Metabólitos secundários

Os vegetais produzem uma grande variedade de compostos orgânicos que parecem não ter função direta no seu crescimento e desenvolvimento, tais substâncias são conhecidas como metabólitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais. O estudo destes compostos foram iniciados pelos químicos orgânicos pela sua importância como drogas medicinais, venenos, aromatizantes e materiais industriais (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Muitos dos produtos do metabolismo secundário tem funções ecológicas, como proteger as plantas contra herbivoria e contra a infecção causada por micro-organismos patogênicos, e agir como atrativos para animais polinizadores e

dispersores de sementes, bem como agentes na competição planta-planta (TAIZ e ZEIGER, 2006; RAVEN, 2007).

Os metabólitos secundários são restritos em sua distribuição, tanto dentro da planta quanto entre diferentes espécies de plantas, a sua produção ocorre num órgão ou tecido específico ou tipo de célula em determinado estágio de desenvolvimento e eles são estocados principalmente nos vacúolos (MARTINS et al., 2003; RAVEN, 2007).

Os produtos secundários podem ser divididos em três grupos principais: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Os terpenóides são sintetizados a partir do acetil-CoA, via rota do ácido mevalônico. Os compostos fenólicos são substâncias aromáticas formadas via rota do ácido chiquímico, como alcalóides, que são sintetizados a partir de aminoácidos (ALMASSY Jr. et al., 2005).

Os compostos nitrogenados, são sintetizados principalmente a partir de aminoácidos aromáticos, os alcalóides, glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, aminoácidos não-protéicos e inibidores de proteases protegem as plantas contra vários herbívoros (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Os terpenos constituem o maior grupo e as substâncias desta classe são, em geral, insolúveis em água. Certos terpenos tem função bem caracterizada no crescimento e no desenvolvimento vegetal, podendo ser considerados como metabólitos primários (as giberelinas, os esteróis, os carotenóides, o ácido abscísico, álcoois politerpênicos de cadeias longas), entretanto, a grande maioria das estruturas terpênicas é produto do metabolismo secundário, provavelmente relacionado a defesa vegetal devido a sua toxicidade e deterrença para muitos insetos e mamíferos herbívoros (como exemplo os piretróides, óleos essenciais, limonóides, fitoecdisonas, saponinas) (TAIZ e ZEIGER, 2006).

2.7 Óleos essenciais

São líquidos oleosos voláteis, dotados de aroma forte, quase sempre agradável, provenientes do metabolismo secundário, existentes em quase 2000

espécies de plantas distribuídas em 60 famílias. Também podem ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências. Estes óleos são normalmente elaborados nas folhas, sendo armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular, e constituídos basicamente pelos terpenos, sintetizados pela rota do ácido mevalônico (SILVA e CASALI, 2000).

Panizza (1997) afirma que óleos essenciais são misturas complexas de substâncias orgânicas, podendo apresentar 150 componentes ou mais, mas o interesse recai sobre os que a apresentam um componente em maior proporção. A atividade curativa dos óleos essenciais é muito variada e na terapêutica são aplicados em muitas doenças. A ação farmacodinâmica mais característica é a antisséptica e antiparasitária, associada a uma ação expectorante, diurética, depurativa, antiespasmódica, emenagoga, antiviral, carminativa, estomáquica, analgésica, antirreumática e anti-inflamatória.

Muitos vegetais possuem misturas de monoterpenos e sesquiterpenos voláteis, os óleos essenciais, os quais conferem aroma característico às suas folhas. Estes óleos apresentam reconhecidas propriedades como repelentes de insetos, sendo frequentemente encontrados em tricomas glandulares que se projetam da epiderme e agem como advertência sobre a toxicidade do vegetal, repelindo potenciais herbívoros mesmo antes que ataquem (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Segundo Martins et al. (2003), a observação do tipo de estrutura secretora do óleo essencial pode ser muito importantes para a determinação dos cuidados pós-colheita com as plantas, ele pode ser produzido por tricomas glandulares (Lamiaceae), cavidades secretoras (Rutaceae, Myrtaceae etc.), glândulas *spouting*, que esguicham o seu conteúdo ao simples toque (em *Dictamnus albus*); ductos secretores (Pinaceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Hypericaceae, Leguminosae, Umbelliferae etc.) e células de óleo (Lauraceae, Valerianaceae etc.). A família Lamiaceae é a que mais apresenta espécies com óleos essenciais.

Os óleos voláteis obtidos de cada órgão da mesma planta podem ter composição química, características físico-químicas e odores bem distintos. Tem sido observado que a composição química de óleos voláteis, extraídos do mesmo órgão da mesma espécie vegetal, podem variar significativamente, de acordo com a época de coleta e condições climáticas e de solo. A diversidade de ambientes

ecogeográficos do Brasil é responsável por sua enorme quantidade de espécies de plantas medicinais (SILVA e CASALI, 2000; ALMASSY JR. et al., 2005).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Anatomia foliar

O material para o estudo anatômico foi coletado no Recôncavo do Estado da Bahia, no município de Conceição do Almeida. Coletado em (23/09/09 e 03/08/10), por J. Lima e identificado pelo Prof. Msc. Márcio Lacerda Martins da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. O material testemunha coletado foi herborizado e depositado na coleção botânica desta mesma universidade.

Todas as análises de anatomia vegetal foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Folhas expandidas foram coletadas, fixadas imediatamente em FAA₅₀ por 24h (JOHANSEN, 1940), em Formalina Neutra Tamponada (LILLIE 1948 in CLARK 1973) por um período de 48 horas. Este material foi submetido ao vácuo em dissecador durante o processo de fixação, lavado em álcool etílico 50% e conservado em álcool etílico 70%.

Amostras da nervura principal e do pecíolo foram isoladas, desidratadas em série butílica terciária e incluídos em parafina histológica (Histotec/Merck; JOHANSEN, 1940). Cortes seriados transversais e paradérmicos foram efetuados em micrótomo rotativo Leica RM2245, com espessura variável (10 -15 µm). Os cortes foram corados com safranina alcoólica 1,5% e azul de astra aquoso 1% (GERLARCH, 1969), para o estudo estrutural, e as lâminas permanentes montadas em resina sintética (Permount/Fister).

A diafanização foi realizada com a porção mediana das folhas completamente expandidas. As amostras foram tratadas com solução de hidróxido de sódio 5% durante 10 minutos, lavadas em água destilada e submetidas à clarificação com água

sanitária comercial (FOSTER, 1950). A coloração foi realizada com safranina álcool-xilólaca 0,5% e as lâminas permanentes montadas em resina sintética.

A documentação foi realizada em fotomicroscópio Olympus BX51 equipado com câmara fotográfica digital Olympus A330. As escalas das figuras foram obtidas através da projeção de lâmina micrométrica fotografada/digitalizada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

Este estudo foi realizado no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

3.2 Ontogênese dos tricomas

Ápice caulinar, folhas jovens não expandidas do primeiro nó, contados a partir do ápice, folhas jovens em final de expansão e folhas adultas foram coletadas e fixadas imediatamente em FAA₅₀ por 24h (Johansen, 1940). Este material foi submetido ao vácuo em dissecador durante o processo de fixação, lavado em álcool etílico 50% e estocado em álcool etílico 70%.

Amostras da nervura principal foram isoladas, desidratadas em série butílica terciária e incluídas em parafina histológica (Histotec/Merck; JOHANSEN, 1940) e outras desidratadas em série etílica e incluídos em metacrilato (Historesin, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha). Cortes seriados transversais e longitudinais foram efetuados em micrótomo rotativo (Leica RM2245), com espessura variável (7 - 10 µm), os cortes foram corados com azul de toluidina em ph 4,4 (O' BRIEN e MCCULLY, 1981) e as lâminas montadas com resina sintética (Permout/Fister).

3.3 Caracterização histoquímica dos tricomas

O material para os testes histoquímicos foi coletado no Recôncavo do Estado da Bahia, no município de Cruz das Almas, proveniente de indivíduo adulto.

Foram realizados testes histoquímicos em amostras frescas de folhas jovens não totalmente expandidas. As seções transversais a mão livre e lâminas provisórias foram montadas em água. Os testes histoquímicos e as principais classes de metabólitos investigados nos tricomas estão descritos na Tabela 1. Seções de controle foram realizadas simultaneamente, de acordo com as recomendações dos respectivos autores.

A documentação de todos os estudos anatômicos foi realizada em fotomicroscópio Olympus BX51 acoplado a câmara fotográfica digital Olympus A330.

Tabela 1- Relação dos testes histoquímicos realizados para identificação do material secretado pelos tricomas de *O. gratissimum*.

Grupos metabólicos		Reagentes
Lipídios	Lipídios totais	Negro de Sudão B (PEARSE, 1980)
	Lipídios ácidos e neutros	Vermelho Sudão IV (PEARSE, 1980) Sulfato Azul de Nilo (CAIN, 1947)
Terpenóides	Óleos essenciais e oleosinas	Reagente de Nadi (DAVID e CARDE, 1964)
<i>Compostos fenólicos</i>	Compostos fenólicos gerais	Dicromato de Potássio (GABE, 1968)
		Cloreto de ferro III (JOHANSEN, 1940)
	Taninos	Sulfato Ferroso em Formalina (JOHANSEN, 1940). Vanilina Clorídrica (MACE e HOWELL, 1974)

Tabela 1- Relação dos testes histoquímicos realizados para identificação do material secretado pelos tricomas de *O. gratissimum* (continuação).

Grupos metabólicos		Reagentes
Alcalóides		Reagente de Wagner (FURR e MAHLBERG, 1980)
		Reagente de Dittmar (FURR e MAHLBERG, 1980)
		Reagente de Ellram (FURR e MAHLBERG, 1980)
Polissacarídeos	Polissacarídeos totais	PAS (Priodic-Acid-Schiff's reaction; MCMANUS, 1948)
	Amido	Lugol (JENSEN, 1962)
	Mucilagens	Ácido Tânico/Cloreto de ferro III (PIZZOLATO 1977)
<i>Proteínas</i>	Proteínas totais	Ponceau de Xilidina (O'BRIEN e MCCULLY, 1981)
	Proteínas totais	Azul Brilhante de Coomassie (FISCHER, 1968)

3.4 Análise do óleo essencial

O material de estudo foi coletado no Recôncavo do Estado da Bahia, nos municípios Conceição do Almeida e Cruz das Almas. Proveniente de indivíduos adultos, coletado em 06/09/2010, 17/09/2010 e 26/09/2010, por J. Lima e identificado pelo Prof. Msc. Márcio Lacerda Martins da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação no Laboratório de produtos naturais (LAPRON) do Departamento de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Feira de Santana-UEFS.

O material seco em sala de secagem com desumidificador, foi triturado em liquidificador industrial, em seguida 1 g foi utilizado na determinação do teor de umidade, foi realizada a triplicata no determinador de umidade (Série ID Versão 1.8 Marte®.), as amostras foram secas a temperatura de 100° C, até que não houvesse variação na pesagem de 0,1% em 30s.

Em torno de 50 g das amostras foram adicionadas no balão de vidro de litros contendo água destilada em volume suficiente para cobertura total do material vegetal, foi realizada a triplicata deste processo de hidrodestilação. Foram adotados aparatos do tipo Clevenger graduados, acoplados em balões de vidro, que foram aquecidos por mantas térmicas elétricas com termostato. O processo de extração foi conduzido durante 3 horas, contadas a partir da condensação da primeira gota, sendo verificado o volume de óleo extraído na coluna graduada do aparelho de Clevenger. Adicionou-se ao óleo retirado do aparelho o sulfato de anidro. Posteriormente, com o uso da pipeta do tipo Pasteur, o óleo foi acondicionado em frasco de vidro de 2 mL, etiquetado e armazenado em congelador comercial a -5 °C.

O teor do óleo essencial foi calculado a partir da base livre de umidade (BLU), que corresponde ao volume (mL) de óleo essencial em relação a massa seca.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Anatomia foliar

As células epidérmicas, em vista frontal, exibem paredes anticlinais sinuosas nas duas faces (Figura 2 A-B). O estudo da vista frontal da epiderme foi realizado utilizando cortes paradérmicos, pois, a folha não resistiu aos processos de clarificação e diafanização, mesmo realizando diversas tentativas. A sinuosidade da parede anticlinal e a espessura da cutícula estão especialmente relacionadas com o ambiente em que a folha se desenvolve (ESAU, 1974; APPEZZATO-DA-GLÓRIA e CARMELLO-GUERREIRO, 2006). A sinuosidade parietal aumenta a superfície de

contato entre as células epidérmicas. Esta característica convexa auxilia na captação luminosa (VOLGELMANN, 1993 *apud* BIERAS, 2006).

A folha é anfiestomática apresentando estômatos diacíticos, mais freqüentes na face abaxial (Figura 2 B). Os estômatos estão localizados no mesmo nível das células epidérmicas. (Figura 3 F-G). A característica anfiestomática da folha pode indicar uma forma de aumentar a taxa fotossintética, por permitir uma troca gasosa eficiente se comparada com folhas hipoestomáticas (PARKHUST, 1978 e MOTT et al., 1982 *apud* ELIAS et al., 2003).

O número dos estômatos por unidade de superfície e o nível posicional das células-guarda com respeito às outras são bastante variáveis e por isso possui pouco valor taxonômico. No entanto, a classificação quanto ao tipo de estômato é uma característica taxonômica frequentemente utilizada (ESAU, 1974).

A presença de estômatos diacíticos ou cariofiláceos é uma característica da família Lamiaceae, embora outras espécies pertencentes a esta família como *Cunila mariana* Linn apresente estômatos anomocíticos (METCALFE e CHALK, 1979), e *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley apresente além dos diacíticos estômatos anisocíticos (FIUZA, 2010).

Em vista transversal a epiderme é uniestratificada em ambas as faces possuindo células com formato tabular, ligeiramente mais estreita e alongada na face abaxial, e recoberta por uma fina cutícula (Figura 3 D). Ela possui distribuição de tricomas tectores concentrados na nervura central, e tricomas glandulares distribuídos em ambas as faces da folha (Figura 3 H-I). Por se tratar de um material pouco resistente ao processo de preparação dos cortes, a maioria dos tricomas não fica intacta após os cortes em micrótomo rotativo.

A justaposição das células da epiderme é de grande importância, restringindo a perda de água (APPEZZATO-DA-GLÓRIA e CARMELLO-GUERREIRO, 2006). A posição das células estomáticas e dos tricomas também é importante e normalmente está relacionada ao ambiente, sendo seco a sub-úmido o clima da região a qual se encontra o vegetal em estudo (FONSECA, 2003).

Tricomas muito variados proporcionam valiosas características para identificação de gêneros e espécies. A ocorrência de diversos tipos de tricomas tectores e glandulares na mesma folha é uma característica de toda a família

Lamiaceae. A parede dos tricomas desta família é dura e lignificada em muitas espécies e em outras compostas de celulose mais fortemente cuticularizada (METCALFE e CHALK, 1979), em *H. canum*, por exemplo, existe uma ampla variedade de tricomas (FIUZA, 2010).

Os tricomas tectores são simples, multicelulares, não ramificados, pontiagudos e eretos. Consiste de três células suportadas por um pedestal celular formado por um grupo de cinco células arranjadas em um círculo em torno da base.

Os tricomas glandulares são de dois tipos: peltados e capitados. Os peltados estão localizados numa depressão da epiderme e consistem em uma célula epidérmica basal, um pedúnculo muito curto, e uma grande cabeça redonda formada por quatro células secretoras. Pode ser observada em microscopia óptica a presença de um grande espaço subcuticular formado pelo desprendimento da cutícula da parte exterior da parede celular. A secreção acumulada neste espaço permanece presa dando uma forma esférica ao tricoma (Figura 3 I).

Os capitados também estão localizados numa depressão da epiderme. Possuem uma célula basal, um pedúnculo curto e uma cabeça bicelular globosa. O produto da secreção se acumula no interior das células apicais em um espaço subcuticular muito pequeno, sendo provavelmente exsudada através de microporos da cutícula (Figura 3 H).

A presença de tricomas glandulares peltados e capitados é uma característica das espécies de Lamiaceae. Ao contrário dos tricomas peltados, que tem uma morfologia bastante uniforme, tricomas capitados variam em termos de características morfológicas que refletem diferentes processos secretores e provavelmente funções distintas (ASCENSÃO et al., 1999).

O óleo secretado é acumulado no espaço subcuticular, mas algumas frações do óleo essencial podem atravessar a cutícula (ASCENSÃO et al., 1995), como foi observado por Serrato-Valenti et al. (1997) em tricomas capitados de folhas de *Salvia aurea* L. No entanto, a maioria da substância secretada permanece no espaço subcuticular até a morte do tricoma glandular (FAHN, 1979).

A partir de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), em trabalho realizado por Ascensão et al. (1999), as cabeças glandulares peltadas de folhas de *Plectranthus ornatus* Codd (Lamiaceae) mostram uma superfície lisa ou enrugada,

indicando estreita ligação da cutícula com as paredes superiores da célula secretora, que enfatiza o contorno da célula ou revela a presença de um grande espaço subcuticular.

A ruptura da cutícula é rara, no entanto, pode ocorrer ao longo de uma linha pré-determinada de aparente fraqueza no plano equatorial da cabeça (ASCENSÃO, 1995, 1999). Ou também fatores externos com altas temperaturas, baixa umidade do ar ou agressão animal leve a ruptura da cutícula (ASCENSÃO et al., 1995).

O mesofilo tem distribuição dorsiventral, com o parênquima paliçádico formado por uma camada de células alongadas voltadas para face adaxial e parênquima lacunoso com arranjo aleatório e muitos espaços intercelulares, com quatro a seis camadas de células voltadas para face abaxial (Figura 3 D). A distribuição dorsiventral do mesofilo permite enquadrar o vegetal em estudo como mesofítico (requerem grande quantidade de umidade no solo e atmosfera relativamente úmida) (APPEZZATO-DA-GLÓRIA e CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

Na nervura central, abaixo da epiderme, existem até quatro camadas de colênquima com espessamento variável e irregular (Figura 3 B). O feixe vascular é colateral, constituído por xilema e floema primários (Figura 3 C).

O pecíolo, em corte transversal, apresenta epiderme similar àquela descrita para a lâmina foliar e até quatro camadas de colênquima que formam uma faixa contínua seguida de parênquima fundamental. O feixe vascular principal é do tipo colateral, em arco aberto formado por sete feixes, sendo dois maiores centrais, três pequenos deslocados para face adaxial e outros dois pequenos nas suaves projeções das extremidades da face adaxial (Figura 3 A). Muitas vezes a estrutura vascular pode exibir características de grande valor taxonômico. Uma destas características são os feixes vasculares subsidiários adicionais presentes nas proeminências do pecíolo na maioria das espécies examinadas (METCALFE e CHALK 1979; VIANA, 2009).

4. 2 Ontogênese dos tricomas glandulares

Os primeiros estágios de diferenciação dos tricomas glandulares de *O. gratissimum* são observados somente nos primórdios foliares. As folhas jovens não expandidas do primeiro nó, contados a partir do ápice, apresentam em quase sua totalidade tricomas no último estágio de desenvolvimento, em que a cabeça já sofreu divisões anticlinais estando completamente formada nos capitados e a um passo da maturidade para os peltados.

O desenvolvimento dos tricomas obteve-se com um aumento no volume e projeção de uma única célula protodérmica (Figura 4 A). Após este aumento de volume a célula protodérmica inicial divide-se periclinalmente, originando duas células de tamanho desigual (Figura 4 B). A célula-filha menor corresponde a célula basal. A célula-filha superior redivide-se assimetricamente formando a célula do pedúnculo e a célula-mãe da cabeça (Figura 4 C). No último estágio, esta passou por divisões anticlinais até que a cabeça esteve completamente formada. Nos tricomas capitados esta divisão ocorreu somente uma vez, originando uma cabeça bicelular. Nos tricomas peltados esta divisão prosseguiu originando uma cabeça com quatro células secretoras.

A conclusão das divisões da cabeça é seguida pela fase de secreção. O óleo essencial é secretado em um espaço subcuticular das células secretoras. Nos tricomas peltados este espaço subcuticular que no início da secreção é pequeno mais tarde tornou-se maior. No caso dos tricomas capitados este espaço continuou reduzido devido a possíveis poros na cutícula que permitiram a saída do óleo.

O número e a disposição das células que constituem a cabeça só foram possíveis de serem observados em cortes paradérmicos. A cabeça dos tricomas peltados consiste em quatro células secretoras e os capitados em duas células.

Tricomas glandulares de *Origanum dictamnus* L., (BOSABALIDIS et al., 1982) possuem desenvolvimento muito similar ao do *O. gratissimum*, difere somente no último estágio visto que aquela espécie possui a cabeça do tricoma composta por doze células secretoras sendo necessário sofrer mais divisões anticlinais. Gersbach (2002) sugere um padrão ontogênico semelhante para os tricomas peltados de *Prostanthera ovalifolia* e Ascensão et al. (1995) para os de *Leonotis leonurus*.

Nestes trabalhos também ocorre a ausência dos tricomas imaturos em folhas completamente expandidas.

4.3 Caracterização histoquímica

Os tricomas glandulares peltados possuem um grande espaço subcuticular preenchido por uma secreção abundante e transparente que oferece forma esférica ao tricoma (Figura 5 A). Geralmente os tricomas peltados contem a maior parte dos óleos essenciais produzidos por Lamiaceae (MAFFEI, CHIALVA e SACCO, 1989; KOKKINI, KAROUSOU e VOKOU, 1994; CLARK et al, 1997 *apud* ASCENSÃO, 1999). No entanto esta característica para a secreção foi encontrada e conoidais das folhas de *Plectranthus ornatus* em trabalho realizado por Ascensão et al. (1999).

O mesmo não pode ser afirmado para os tricomas capitados, que são de pedúnculo curto, em *O. gratissimum*, pois, estes apresentam um espaço subcuticular muito reduzido armazenando pouco produto da secreção. Segundo Fahn (1979) esta característica que pode ser explicada pela possível presença de microporos da cutícula que permitem a passagem da secreção.

As especificações de cada tipo de tricoma não são conhecidas e por isso não se podem considerar as mesmas características para os dois tipos de tricomas glandulares de *O. gratissimum*. Como os peltados apresentam uma significativa quantidade de secreção armazenada, diferente dos capitados, este trabalho reflete a caracterização histoquímica dos tricomas peltados.

Na caracterização histoquímica dos tricomas (tabela 2), verificou-se reação positiva para os compostos lipofílicos: Negro de Sudão B (Figura 5 B), Vermelho Sudão IV (Figura 5 C), Sulfato Azul de Nilo (Figura 5 D), que corou a secreção de rosa, e Reagente de Nadi, que corou a secreção de violeta ou azul-violeta.

A secreção do tricoma de *O. gratissimum* tem natureza lipídica, atestada pelos resultados positivos com Negro de Sudão B, Vermelho Sudão IV e Sulfato Azul de Nilo. Pode-se ainda inferir que os lipídios são neutros, visto que foram corados de rosa pelo Sulfato Azul de Nilo, que trata-se a um terpeno de acordo com

a reação positiva com o Reagente de Nadi. Em estudo realizado por Ascensão et al. (1999) os tricomas peltados de *P. ornatus* apresentaram somente reação positiva para compostos lipofílicos e terpenóides, os mesmos resultados foram registrados por Ascensão et al. (1997) e Serrato-Valenti et al. (1997) para tricomas peltados e capitados de folhas de *Salvia aurea*.

Os resultados histoquímicos indicam que a secreção de tricomas peltados em *L. leonutus* é um terpenóide contendo oleoresina (óleos essenciais e ácidos resiníferos) e glucanos flavonóides como seus principais constituintes (ASCENSÃO et al., 1997).

Os testes histoquímicos para detectar alcalóides, proteínas, polissacarídeos e compostos fenólicos forneceram resultados negativos assim como nos trabalho de Ascensão et al. (1997, 1999). No entanto, no trabalho realizado por Serrato-Valenti et al. (1997) foi encontrado substâncias fenólicas e polissacarídeos não-celulósicos em *Salvia aurea*, mas a função dessas substâncias não é conhecida pelos autores.

Estes resultados são consistentes com outros dados fitoquímicos para Lamiaceae. Terpenóides e flavonóides são amplamente distribuídas nesta família, enquanto taninos estão ausentes e alguns alcalóides menores ocorrem (RICHARDSON, 1992 *apud* ASCENSÃO 1997, 1999).

Tabela 2 – Caracterização histoquímica dos tricomas secretores de *O. gratissimum*.

Grupos compostos	Teste	Tricoma secretor
Lipídios	Negro de Sudão B	+
	Vermelho Sudão IV	+
	Sulfato Azul de Nilo	+
Terpenóides	Reagente de Nadi	+
<i>Compostos fenólicos</i>	Dicromato de Potássio	-
	Cloreto de ferro III	-
	Sulfato Ferroso em Formalina	-
	Vanilina Clorídrica	-

Tabela 2 – Caracterização histoquímica dos tricomas secretores de *O. gratissimum* (continuação).

Grupos compostos	Teste	Tricoma secretor
Alcalóides	Reagente de Wagner	-
	Reagente de Dittmar	-
	Reagente de Ellram	-
Polissacarídeos	PAS	-
	Lugol	-
	Ácido Tânico/Cloreto de ferro	-
	III	-
<i>Proteínas</i>	Ponceau de Xilidina	-
	Azul Brilhante de Coomassie	-

4.4 Análise do óleo essencial

A extração do óleo essencial das folhas secas de *O. gratissimum* obtiveram um teor 3,4%, do material coletado no município de Conceição do Almeida e 3,5% do material coletado no município de Cruz das Almas.

Os teores de óleo essencial do material coletado nos dois municípios não diferiram significativamente entre si, o que permite inferir que os dois ambientes fornecem condições semelhantes para a produção do óleo essencial.

Observou-se que os indivíduos *O. gratissimum* ocorriam em locais que existiam uma grande diversidade de espécies vegetais e que protegia-os contra a exposição total ao sol.

A composição dos princípios ativos na planta depende naturalmente do controle genético e dos estímulos proporcionados pelo meio (MARTINS et al., 2003).

Os ambientes onde as plantas se desenvolvem exercem grande influencia sobre a produção e composição química dos óleos essenciais. Os fatores

ambientais podem ser bióticos (fungos simbioses e parasitas) e abióticos (temperatura, luz, fotoperíodo, água, nutrientes) (GARLET, 2007).

Segundo Martins et al. (2010) plantas crescidas a pleno sol obtém o menor teor de óleo essencial, provavelmente, como consequência da menor área foliar e alocação preferencial de biomassa para o sistema radicular, devido à elevada radiação. Ele ainda infere que o sombreamento de 50% favorece a produção de óleo essencial em *O. gratissimum*.

A luz atua de forma significativa e complexa no acúmulo e na variedade dos componentes dos óleos essenciais, uma vez que afeta direta ou indiretamente a produção de fitomassa, a proporção de órgãos e as vias biossintéticas destes metabólitos secundários (OLIVEIRA et al., 2007).

Este óleo, com diversas propriedades medicinais, pode atrapalhar as técnicas histológicas com parafina ou historesina. É fácil associar o alto rendimento deste óleo com a difícil fixação dos cortes realizados com material incluso em parafina ou a difícil secagem da historesina, substâncias que são solúveis com o óleo.

5 CONCLUSÕES

A espécie em estudo pode ser enquadrada como mesofítica, que poderia justificar a sua dispersão, segundo a literatura, em ambientes subtropicais.

Possui características taxonômicas importantes da família Lamiaceae a qual pertence.

As características anatômicas e histoquímicas são comuns àqueles descritos para a família, podendo ser utilizados como diagnóstico para sua identificação.

Os dois ambientes em que amostras foram coletadas para análise do óleo essencial oferecem condições semelhantes para o crescimento do vegetal e para a produção de óleo essencial.

Os tricomas encontrados (capitados e peltados) produzem e armazenam material de origem lipídica, o óleo essencial.

A ontogênese dos tricomas segue padrão semelhante ao observado em outras espécies de Lamiaceae.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P. e ANDRADE L. H. C. Etnobotânica Del gênero *Ocimum* L. (Lamiaceae) em lãs comunidades afrobrasileñas. **Anales Jardín Botánico de Madrid**, v. 56, n. 1, p. 107-118, 1998.
- ALMASSY JR., A. A.; LOPES, R. C.; ARMOND, C.; SILVA, F. e CASALI, V. W. D. **Folhas de chá: plantas medicinais na terapêutica humana**, Viçosa: UFV, p. 233, 2005.
- ALVES, M. C. S.; FILHO, S. M., INNECCO, R. e TORRES, S. B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.11, p.1083-1086, 2004.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. e CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**, 2.ed., Viçosa: UFV, p. 438, 2006.
- ASCENSÃO, L., MARQUES, N. e PAIS, M. S. Vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v.75, n.6, p. 619-626, 1995.
- ASCENSÃO, L. MARQUES, N. e PAIS, M. S. Peltate glandular trichomes of *Leonotis leonurus* leaves: ultrastructure and histochemical characterization of secretions. **International Journal of Plant Sciences**, v.156, n.3, p.249-258, 1997.
- ASCENSÃO, L.; MOTA, L. e CASTRO, M. Glandular Trichomes on the Leaves and Flowers of *Plectranthus ornatus*: Morphology, Distribution and Histochemistry. **Annals of Botany**, v. 84, n.4, p.437-447, 1999.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa: UFV, p. 98-102, 1991.
- BIASI, L. A.; MACHADO, E. M.; KOWALSKI, A. P.; SIGNOR, D.; ALVES, M. A.; LIMA, F. I.; DESCHAMPS, C. e CÔCCO, L. C. SCHEER, A. P. Adubação orgânica na produção, rendimento e composição do óleo essencial da alfavaca quimiotipo eugenol. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.1, Brasília, 2009.

- BIEIRAS, A. C. **Morfologia e anatomia foliar de dicoledôneas arbóreo-arbustivas do cerrado de São Paulo, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, SP. Rio Claro, SP: Unesp, 2006.
- BLANK, A. F.; FILHO, J. L. S. C.; NETO, A. L. S.; ALVES, P. B. A.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; MANN, R. S. e MENDONÇA, M. C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriço e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.1, Brasília, 2004.
- BOSABALIDIS, A. e TSEKOS, I. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. **Planta**. v.156, n.6, p. 496-504. 1982.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 10. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 09 de Março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências.
- CAIN, A. J. The use of Nile Blue in the examination of lipids. **Quartely Journal of Microscopical Science**. v.88, p.383-392. 1947.
- CLARK, G. **Staining procedures**. The Williams & Wilkins Co., Baltimore. 1973.
- DAVID, R. e CARDE, J. P. Coloration différentielle des inclusions lipiques et terpeniques des pseudophylles Du pin maritime au moyen Du reactif Nadi. **Comptes rendus de L'Academie des Sciences**. v. 258, p. 1338-1340. 1964.
- DUKE, S. O. Glandular trichomes – A focal point of chemical and structural interactions. **International Journal of plant sciences**. v. 155, n. 6, p. 617-620, 1994.
- ELIAS, S. R. M.; ASSIS, R. M.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. e REZENDE, M. H. Anatomia foliar em plantas jovens de *Solanum lycocarpum* A.St.-Hil. (Solanaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.2, p.169-174, 2003.

- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. 1974.
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press inc. 1979.
- FIUSA, T. S.; REZENDE, M. H.; SABÓIA-MORAIS, S. M. T.; TRESVENZOL, L. M. F.; FERREIRA, H. D. e PAULA, J. R. Estudo das folhas e caule de *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth. Harley, Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmagognosia**. v. 20, n.2, p.192-200, 2010.
- FISCHER, D. B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie**, v. 16, p. 92-96, 1968.
- FONSECA, A. A. O. *et all*. Caracterização e qualidade de frutos de carambolas produzidos em Cruz das Almas – Ba. **Magistra**, Cruz das Almas – Ba, v. 15, n.2, 2003.
- FOSTER, A. S. **Techniques for the study of venation patterns on the leaves of Angiosperms**. Proceedings 7th Int. Bot. Stockholm, p. 586-587. 1950.
- FURR, M. e MAHLBERG, P. G. Histochemical analysis of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **Journal of Natural Products**. v. 44, n. 2, p.153-159. 1981.
- GABE, M. **Techniques histologiques**. Masson e Cie, Paris. 1968.
- GARLET, T. M. B. **Produtividade, teor e composição de óleo essencial de espécies de Mentha L. (Lamiaceae) cultivadas em hidroponia com variação de potássio**. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal de Santa Maria, RS. Santa Maria, RS: UFSM, 2007.

GEMTCHÚJNICOV, I. D. **Manual de taxonomia vegetal: plantas de interesse econômico agrícolas, ornamentais e medicinais**. São Paulo: Agronômica Ceres, p.268-270, 1976.

GERLARCH, D. **Botanische mikrotechnik: Eine Einführung**. Georg Thieme, Stuttgart. 1969.

GERSBACH, P. V. The essential oil secretory structures of *Prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae). **Annals of Botany**. v.89, n.3 p.255-260, 2002.

HARLEY, M. M.; PATON e CADE, P. G. Pollen morphological studies in tribe Ocimeae (Nepetoideae: Labiatae): I. *Ocimum* L. **Grana** v.31, p.161-176, 1992.

JENSEN, W. A. A. **Botanical histochemistry, principles and practice**. W. H. Freeman, San Francisco. 1962.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. Mc Graw Hill, New York. 1940.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 13 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, p. 582-586, 2002.

LEVIN, D. A. The role of trichomes in plants defense. **The Quartely Review of Biology**. v. 48, n. 1, p. 3-15, 1973.

LORENZI, H. e MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 2008.

MACE, M. E. e HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Phytopathology**, v.64, n.10, p.1297-1302, 1974.

MACMANUS, J. F. A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology**, v. 23, n.3, p. 99-108. 1948.

MARTINS, E. R. **Morfologia interna e externa, caracterização isozimática e óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG:UFV. 1996.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais.** Viçosa: UFV, 2003.

MARTINS, J. R., ALVARENGA, A. A., CASTRO, E, M. SILVA, A. P. O. e ALVES, E. Teores de pigmentos fotossintéticos e estrutura de cloroplastos de Alfavaca cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, v.40, n.1, 2010.

METCALFE , C. R. e CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons.** 2 ed. v. 1. Oxford: Clarendon Press. 1979.

NAKAMURA C.V.; UEDA-NAKAMURA T.; BANDO E.; MELO A. F. N.; CORTEZ D. A. G. e DIAS FILHO B. P. 1999. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** Rio de Janeiro, v. 94, n.5, p. 675-678, 1999.

O'BRIEN, T. P. e **MCCULLY, M. E.** **The study of plant structure principles and selected methods.** Termarcarphi Pty. Ltda., Melbourne. 1981.

OLIVEIRA, M. I.; CASTRO, E. M.; COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P. e AMARAL, T. A. Crescimento e teor de óleo essencial de plantas jovens de *Artemisia vulgaris* submetidas a diferentes condições de radiação. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, Caxambu – MG. 2007.

Organização Mundial da Saúde (OMS). **World Health Organization (WHO) monographs on selected medicinal plantas.** v. 1. 1999.

PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato.** 28 ed. São Paulo: IBRASA, p.279, 1997.

PATON, A. A Synopsis of Ocimum L. (Labiata) in Africa. **Kew Bulletin**. v. 47. n. 3. p. 403-405. 1992.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology**. Churchill Livingstone, Edinburgh. 1980.

PIZZOLATO, T. D. Staining of Tilia mucilages with Mayer's tannic acid-ferric chloride. **Bulletin of the torrey Botanical Club** v.104, p.277-279. 1977.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F. e EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 738, 2007.

RODRIGUES, A. G.; ANDRADE, F. M. C.; COELHO, F. M. G.; COELHO, M. F. B.; AZEVEDO, R. A. B. e CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: etnoecologia e etnofarmacologia**. Viçosa: UFV, Departamento de Fitotecnia, 2002.

SERRATO-VALENTI, G.; BISIO, A.; CORNARA, L. e CIARALLO, G. Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea* L. **Annals of Botany**. v.79, n.3, p.329-336, 1997.

SILVA, F. e CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. 2 ed. Viçosa, MG: UFV, DFT, 2000.

SILVA, F. **Avaliação do teor e da composição química do óleo essencial de plantas medicinais submetidas a processos de secagem e armazenamento**. Dissertação (Doutorado em Engenharia Agrícola), Universidade Estadual de Campinas, SP. Campinas, SP: UNICAMP, 2005.

SOUZA, V. C. e LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p. 523-528, 2005.

TAIZ, L. e ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, p.722, 2004.

VIANA, J. S. **Caracterização anatômica, morfológica e química de *Ocimum gratissimum* Lineu**. Dissertação de mestrado em Ciências Agrárias. Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Veterinária. Brasília/DF. p. 88. 2009.

VIEIRA, R. F.; GRAYER, R. J. PATONB, A e SIMON, J. E. Uso de marcadores químicos no estudo da diversidade genética de *Ocimum gratissimum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.12, p.126-129, 2002.

WEBERLING, F. e SCHWANTES, H. O. **Taxonomia vegetal**. São Paulo: EPU, p. 107-108, 1986.

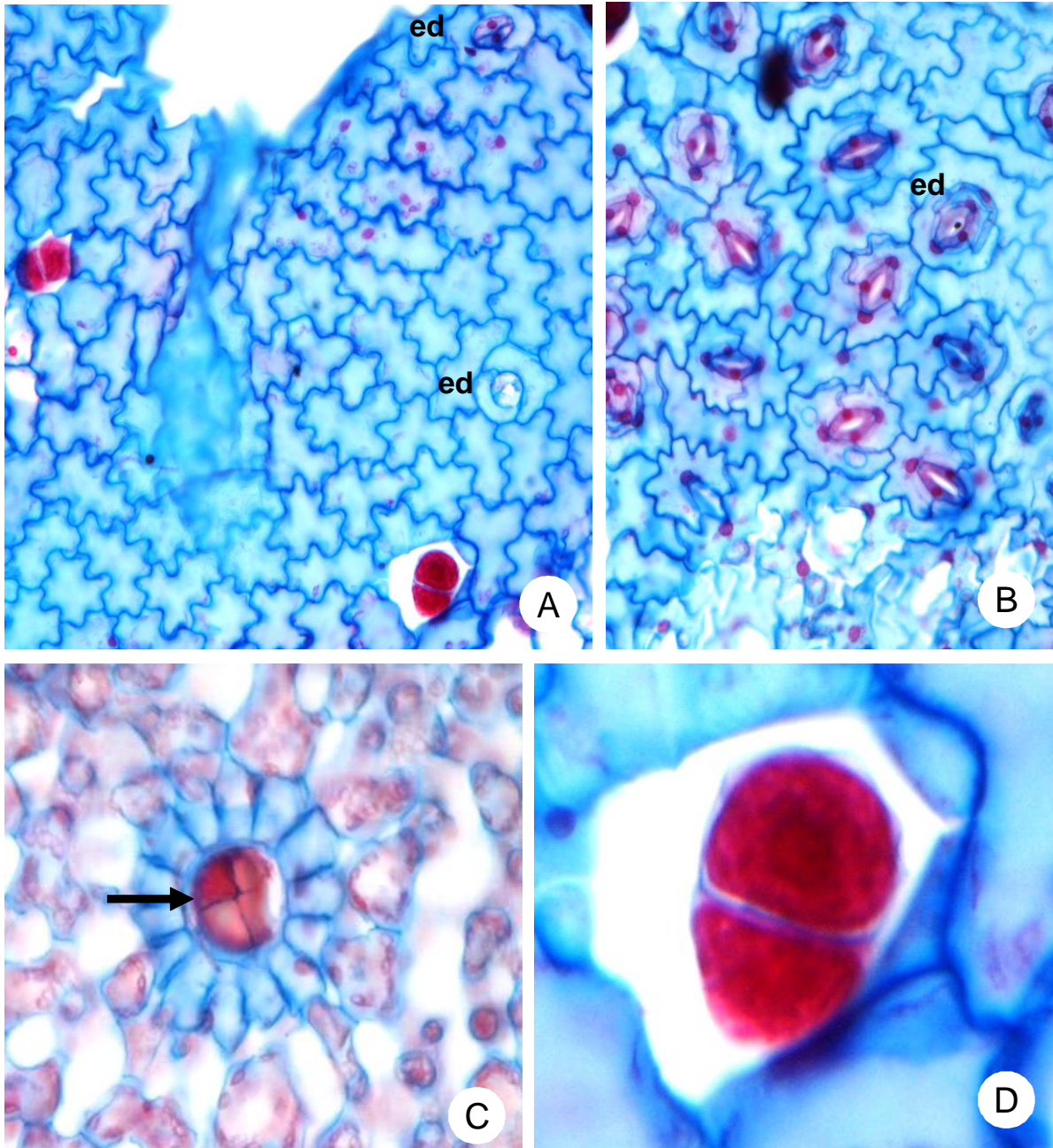


Figura 2 A-D. Secções paradérmicas da lâmina foliar de *Ocimum gratissimum* L. A - Vista frontal da face adaxial: células epidérmicas com paredes anticlinais sinuosas e estômatos diacíticos. B - Vista frontal da face abaxial apresentando estômatos diacíticos mais freqüentes. C - Vista frontal da cabeça secretora tetracelular do tricoma peltado numa cavidade subepidérmica (seta). D - Vista frontal da cabeça secretora bicelular do tricoma capitado. ed: estômato diacítico.

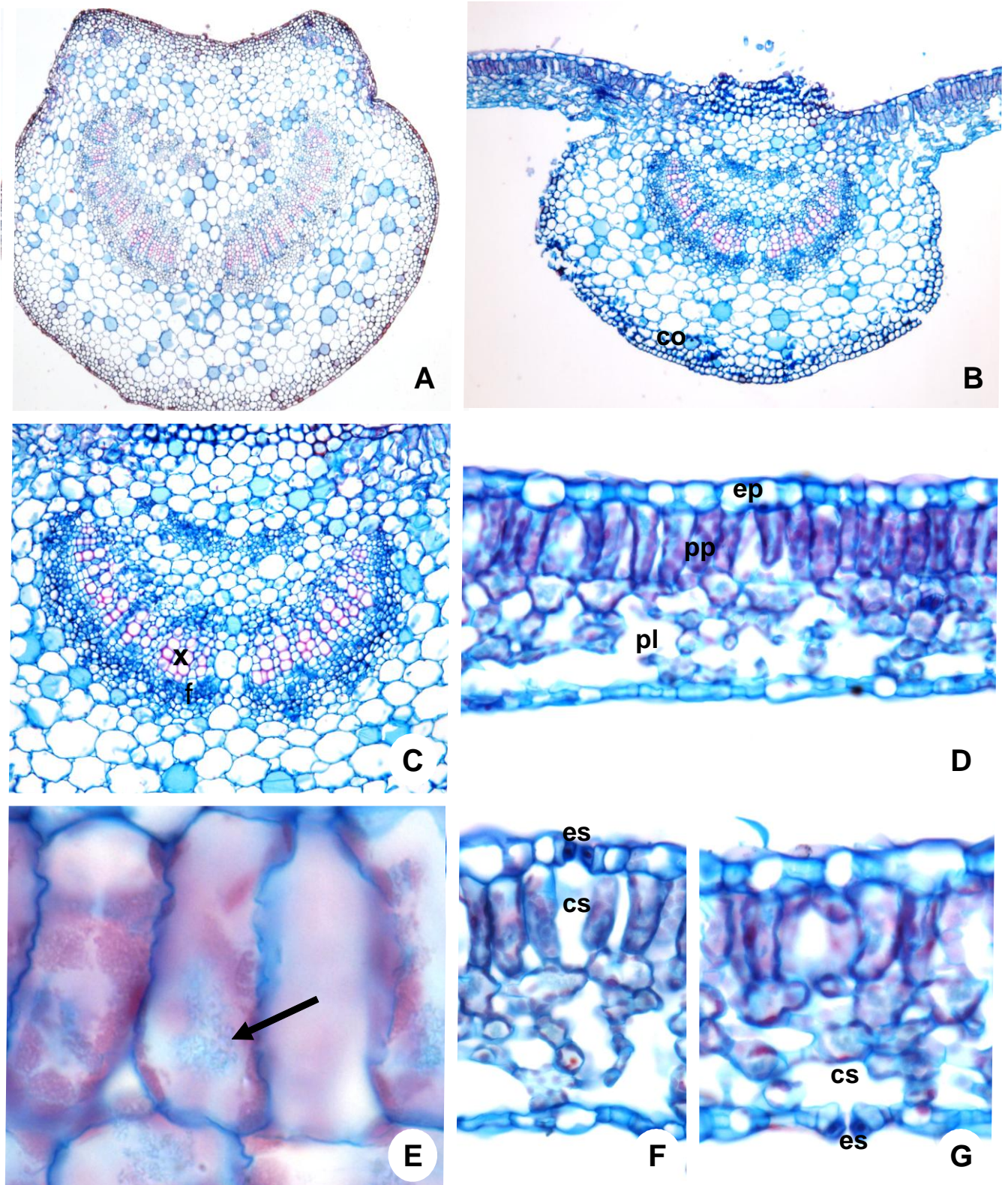


Figura 3 A-G. Secções transversais da folha e do pecíolo de *O. gratissimum*. A- Secção transversal do pecíolo. B- Secção transversal da nervura central. C. Detalhe do feixe vascular. D - Mesofilo dorsiventral. E - Detalhe do parênquima paliçádico. F - Estômato e câmara subestomática da face adaxial. G - Estômato e câmara subestomática da face abaxial. co: colênquimacs: câmara subestomática, ep: epiderme, es: estômato, f: floema, pl: parênquima lacunoso, pp: parênquima paliçádico, x: xilema.

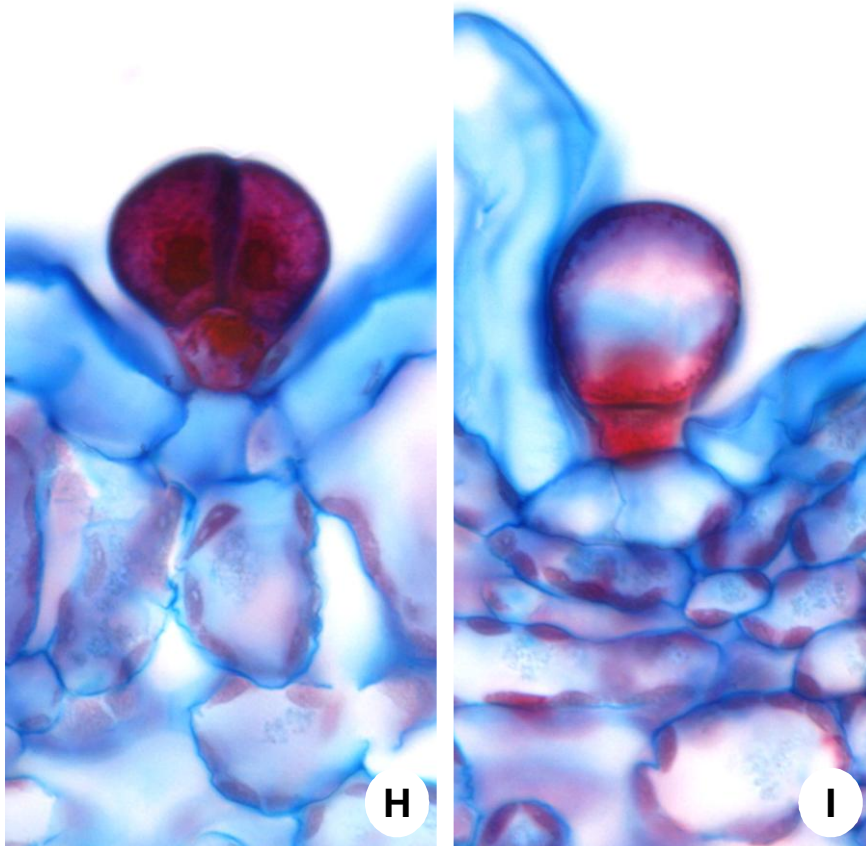


Figura 3 H-I. Fotomicrografias dos tricomas glandulares de *O. gratissimum* H - Detalhe das células secretoras com núcleo e conteúdo densos dos tricomas capitados. I - Detalhes do tricoma glandular peltado evidenciando a cavidade subcuticular repleta de secreção.

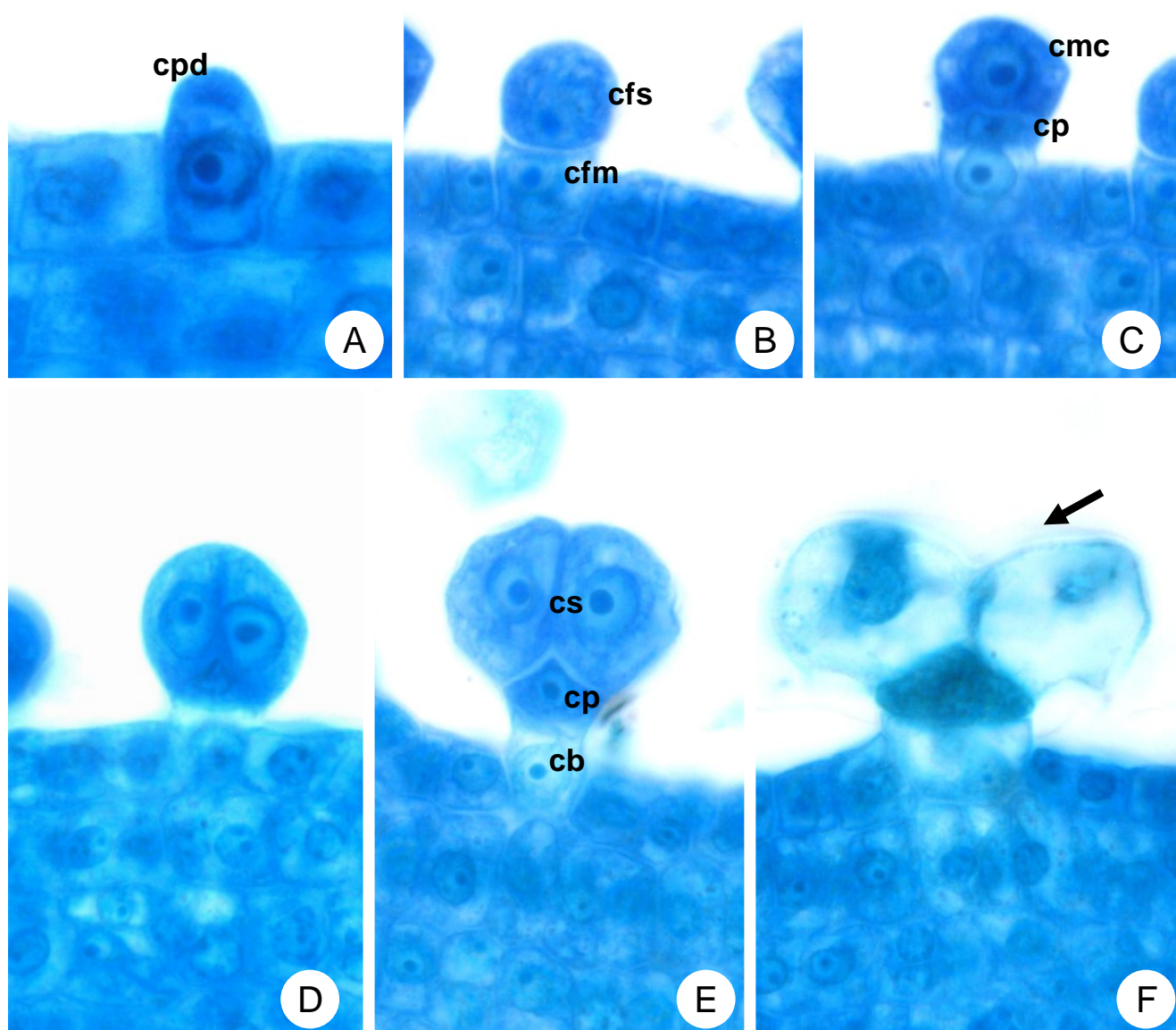


Figura 4 A-F. Ontogenia dos tricomas secretores de *O. gratissimum* (corte transversal). A - Projeção da célula protodérmica. B - Tricoma com duas células. C - Divisão periclinal da célula superior. D – F. Divisões anticlinas da cabeça secretora. F - Descolamento da cutícula das paredes apicais das células secretoras (seta). cb: célula basal, cfm: célula-filha menor, cfs: célula-filha superior, cmc: célula-mãe da cabeça, cp: célula do pedúnculo, cpd: célula protodérmica, cs: cabeça secretora.

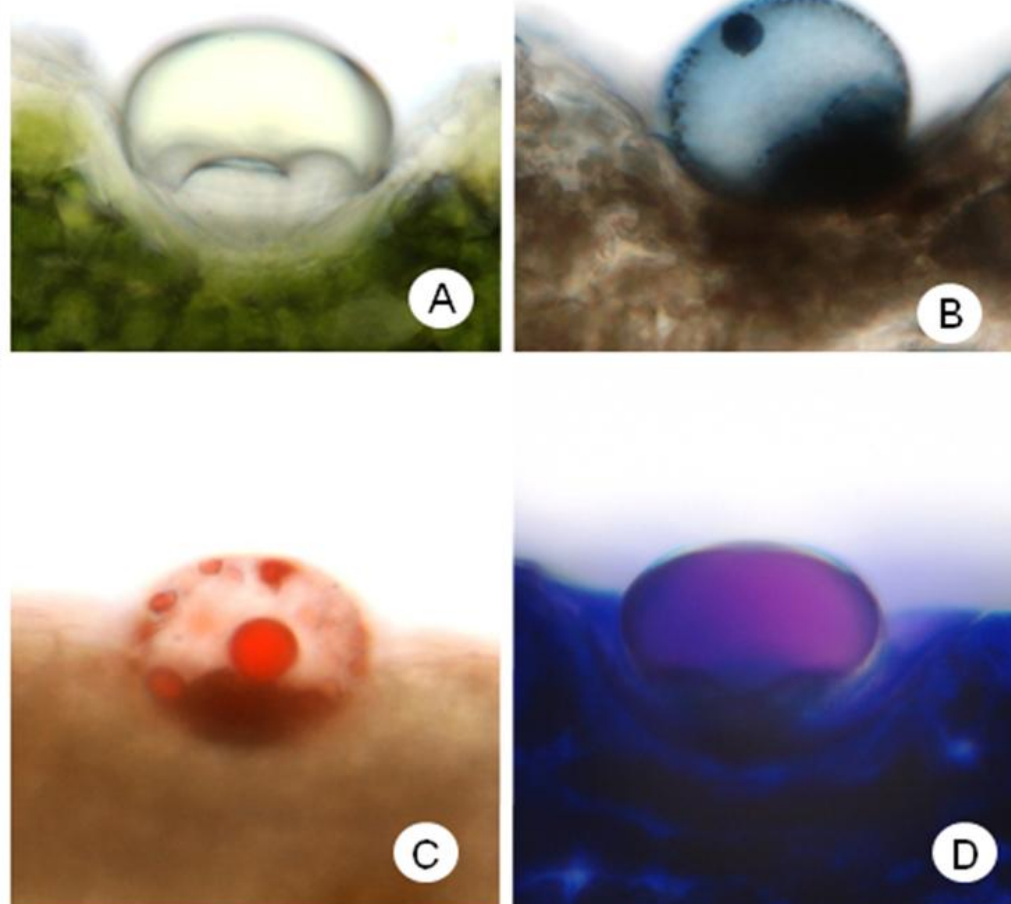


Figura 5 A-D. Testes histoquímicos de tricomas glandulares peltados de *O. gratissimum*. A – Secreção *in natura* no espaço subcuticular da cabeça do tricoma (seta). B – Reação positiva ao Negro de Sudão B. C – Reação positiva ao Vermelho Sudão IV. D – Reação positiva ao Sulfato Azul de Nilo.