

Caracterização histológica de folhas de *Mentha pulegium x spicata* (Lamiaceae).

Martins, M.B.G.; Martins, A.R.

Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista, UNESP, Departamento de Zoologia e Botânica, Câmpus de São José do Rio Preto – SP, Av. Cristovão Colombo, 2265, 15054-000, São José do Rio Preto – SP. e-mail: bernadgm@bot.ibilce.unesp.br

RESUMO: Os tricomas glandulares de *Mentha pulegium x spicata* (Lamiaceae) foram analisados em microscopia óptica e em microscopia eletrônica de varredura. Três tipos morfológicamente distintos de tricomas são descritos, sendo dois glandulares (peltado e capitado) e um não glandular (tector). O tricoma capitado Tipo I, apresenta-se com uma célula basal, uma célula peduncular e uma célula apical de forma alongada com duas depressões laterais simétricas mostrando a cutícula mais fina. O tricoma peltado apresenta uma célula basal, uma célula peduncular e um conjunto de células apicais secretoras dispostas radialmente, recobertas por cutícula. Os tricomas tectores apresentam-se de duas formas: unisseriados simples e bifurcados, ambos multicelulares, nos quais ocorrem ornamentações na cutícula. As secções transversais da lâmina foliar, analisadas em microscopia óptica, mostraram o mesofilo formado por parênquima paliádico uniestratificado e parênquima lacunoso com quatro a cinco camadas de células irregulares. Foi observado a presença de massas cristalíferas aglomeradas nas células do mesofilo e nas células epidérmicas.

Palavras - chave: *Mentha pulegium* Lamiaceae, plantas medicinais.

ABSTRACT: Histological characterization in leaves of *Mentha pulegium x spicata* (Lamiaceae).

The glandular hairs of *Mentha pulegium x spicata* (Lamiaceae) were studied by light microscopy and scanning electron microscopy. Three morphologically distinct types of trichomes are described: two of them are glandulars (peltate and capitate) and one is non-glandular hair (tector). Capitate trichome is of Type I, and consists of a foot cell, a stalk and a unicellular head with elongated format and two lateral depressions, showing the thinnest cuticle. The peltate trichome consists of a foot cell, a stalk cell and a radial cluster of secretory cells, cover by cuticle. The tector trichomes can be simple and forked -format, both multicellular, in which there are ornamentations on cell cuticle. The leaf cross sections, analysed in light microscopy, showed mesophyll organized for unistratification palisade parenchyma and lacurary parenchyma with four to five cell stratum. It was observed the presence of cristal mass agglomerate in mesophyll cells and in epidermical cells.

Key words: *Mentha pulegium*, Lamiaceae, medicinal plants.

INTRODUÇÃO

O gênero *Mentha* (Lamiaceae) compõe-se aproximadamente de treze espécies e muitos híbridos. É originário da região mediterrânea e parte da Ásia, estando atualmente distribuído em quase todo o mundo, especialmente nas regiões temperadas (Lipp-João, 1990).

Harley (1977) afirma que o gênero é altamente complexo e de difícil identificação específica, e conclui que as causas dessa complexidade são devidas a plasticidade morfológica, facilidade para hibridização, propagação vegetativa, cultivo desde a antiguidade e controvérsias nomenclaturais.

O híbrido *Mentha pulegium x spicata*, também conhecido como poejo de praia, é uma planta perene, rasteira, ramosa, de aproximadamente trinta centímetros, com

caule arroxeadado e folhas opostas, pequenas, lanceoladas e serradas no bordo, apresentando cheiro característico.

Óleos essenciais, sintetizados e armazenados nos tricomas glandulares de espécies de *Mentha* apresentam valor comercial quando adicionados a produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos (Ohloff, 1994).

Monoterpenos incluem o maior componente do óleo essencial das mentas, incluindo *Mentha x piperita* e *Mentha spicata* (Lawrence, 1981). Os monoterpenos cíclicos mentona, mentol e carvona conferem característico aroma e sabor aos óleos de mentas, e são derivados da biossíntese de terpenóides intermediários (Veronese, 2001).

A biossíntese e acumulação de monoterpenos em *Mentha* é especialmente localizada nos tricomas glandulares e originada nos plastídeos (leucoplastos) das células secretoras altamente especializadas, estrutura glandular não-fotossin-

tética (Tuner et al., 1999).

Gersbach (2002), observou que as células secretoras de *Prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae) apresentam o citoplasma denso com a presença de muitos leucoplastos.

A principal característica da família é a presença do óleo essencial produzido pelos tricomas glandulares (Fahn, 1990), sendo o objetivo deste trabalho realizar a caracterização histológica da lâmina foliar de *Mentha pulegium x spicata*, dando ênfase na morfologia dos tricomas glandulares.

MATERIAL E MÉTODO

Os espécimes vegetais foram cultivados na Área Experimental do Departamento de Botânica. A planta foi identificada pelo Prof. Dr. Raymond M. Harley e a exsiccata foi depositada no Herbário da UNESP – São José do Rio Preto, sendo identificada pelo número 26228. As populações de *Mentha pulegium x spicata*, não receberam tratamento especial no seu cultivo. Com a finalidade de se estudar a histologia da lâmina foliar e realizar a identificação das estruturas secretoras, foram utilizadas folhas adultas, colhidas no estágio vegetativo da planta.

1- Microscopia Óptica:

O preparo do material para obtenção do laminário histológico, constituiu-se basicamente de processos usuais utilizados em microtomia, que incluem: fixação em FAA 50% por 24 horas, desidratação em série alcoólica (etílica), infiltração em parafina, emblocamento, seccionamento, coloração e montagem de lâminas permanentes (Johansen, 1940). As peças incluídas em parafina foram seccionadas em micrótomo rotativo, obtendo-se secções transversais da lâmina foliar e da nervura principal, com 10-15 mm de espessura. O material foi submetido a coloração dupla com Azul de Astra e Safranina.

2- Microscopia Eletrônica de Varredura:

O material foi fixado em uma solução de Karnovsky modificada composta por paraformaldeído 4%, glutaraldeído 0,5%, em tampão cacodilato de sódio, pH 7,2, 0,1M e água destilada, pós fixado com tetróxido de ósmio (OsO₄), desidratado com acetona seguindo a série de concentrações: 30%, 50%, 70%, 90%, 100%, sendo posteriormente submetido à secagem até o ponto crítico, fixado a um suporte através de um adesivo condutor, e metalizado (Danilatos, 1998).

RESULTADO E DISCUSSÃO

O estudo de microscopia óptica mostra que *Mentha pulegium x spicata* apresenta o mesofilo formado por parênquima paliçádico unies-

tratificado e por parênquima lacunoso com quatro a cinco camadas de células irregulares (Figura 1 B e C).

Massas cristalíferas aglomeradas são observadas no interior de todas as células do mesofilo e das células epidérmicas (Figura 1 B e C). Sossae (1995), estudando anatomicamente folhas de *Tetradenia ripara*, observou no parênquima paliçádico bisseriado, células com inclusões citoplasmáticas na forma de drusas.

Bonzani & Espinar (1993), estudaram anatomicamente três espécies de Lamiaceae usadas na medicina popular: *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb, *Mentha citrata* Ehrh e *Marrubium vulgare* L., para observar a presença de esferocristais ou massas cristalinas de diosmina, e observaram a presença dos cristais em células epidérmicas e nos espaços intercelulares somente em *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb, sendo os cristais ausentes em *Mentha citrata* Ehrh e *Marrubium vulgare* L.

A epiderme foliar possui tricomas glandulares distribuídos em ambas as superfícies da folha (Figura 3 A-F), sendo mais concentrados na superfície da face abaxial (Figura 3 D - F). Gavalas *et al.* (1998) em seu trabalho comparativo entre *Mentha x villosa-nervata*, *M. longifolia* e *M. spicata*, afirma que *M. spicata* apresenta grande número de tricomas glandulares em ambas as faces da folha, o que está de acordo com este trabalho. Esta observação também é descrita por Ascensão *et al.* (1995) em estudos com *Leonotis leonurus*, onde além de descrever tricomas peltados e capitados em ambas as faces da epiderme, ainda completa que eles predominam na superfície abaxial, onde são particularmente concentrados entre as nervuras.

Os tricomas não glandulares, também chamados de tectores, são na maioria simples, unisseriados e multicelulares (Figura 2 C; 3 D e F). Também foram observados tricomas tectores bifurcados (Figura 3 B) em menor quantidade. Ascensão *et al.* (1998) estudando órgãos vegetativos e reprodutivos de *Plectranthus madagascariensis* descreveram os tricomas não glandulares como simples unisseriados e multicelulares, pontudos, retos ou curvados, formados de duas a seis células com micropapilas cuticulares.

Foi observada a presença de ornamentações na cutícula dos tricomas tectores (Figura 3 F). Ascensão *et al.* (1995) em seu estudo com *Leonotis leonurus*, descreveram essas ornamentações na cutícula como verrugas cuticulares.

Os tricomas glandulares foram classificados em dois tipos :

-Tricomas Peltados (Figura 2 D; 3 A, C e E); constituídos por uma célula basal, uma célula peduncular curta, e um conjunto de células apicais secretoras dispostas radialmente, recobertas pela cutícula (Figura 2 D). Lange & Croteau

FIGURA 1 - A Secção transversal da nervura principal da folha de *Mentha pulegim x spicata*; B. Secção transversal do bordo foliar; C. Secção transversal da área internervural. (ead) epiderme face adaxial; (eab) epiderme face abaxial; (mc) massas cristalíferas; (pp) parênquima paliçádico; (pl) parênquima lacunoso; (p) tricoma peltado.

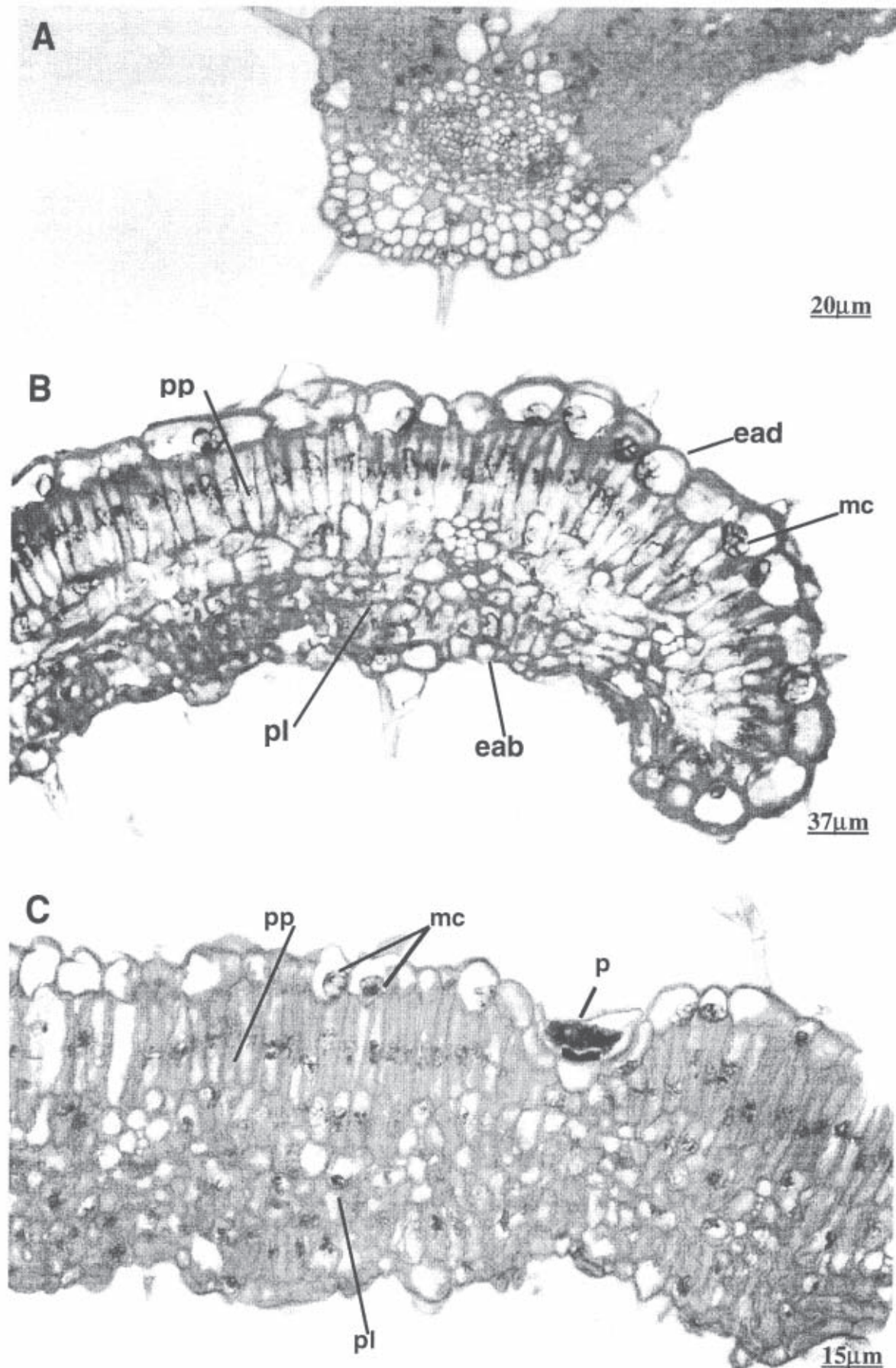


FIGURA 2 - A. Tricoma capitado Tipo I: com uma célula basal, uma célula peduncular curta e uma célula apical secretora oblonga. B. Tricoma capitado Tipo I: com uma célula basal, uma célula peduncular e uma célula apical secretora, (→) seta indicando secreção. C. Tricoma tector, multicelular, unisseriado. D. Tricoma peltado: com uma célula basal, uma célula peduncular curta e um conjunto de células apicais secretoras dispostas radialmente, recobertas por cutícula. (tt) tricoma tector; (ec) espaço cuticular; (c) cutícula; (ca) célula apical; (cp) célula peduncular; (cb) célula basal epidérmica; (ccs) conjunto de células apicais secretoras.

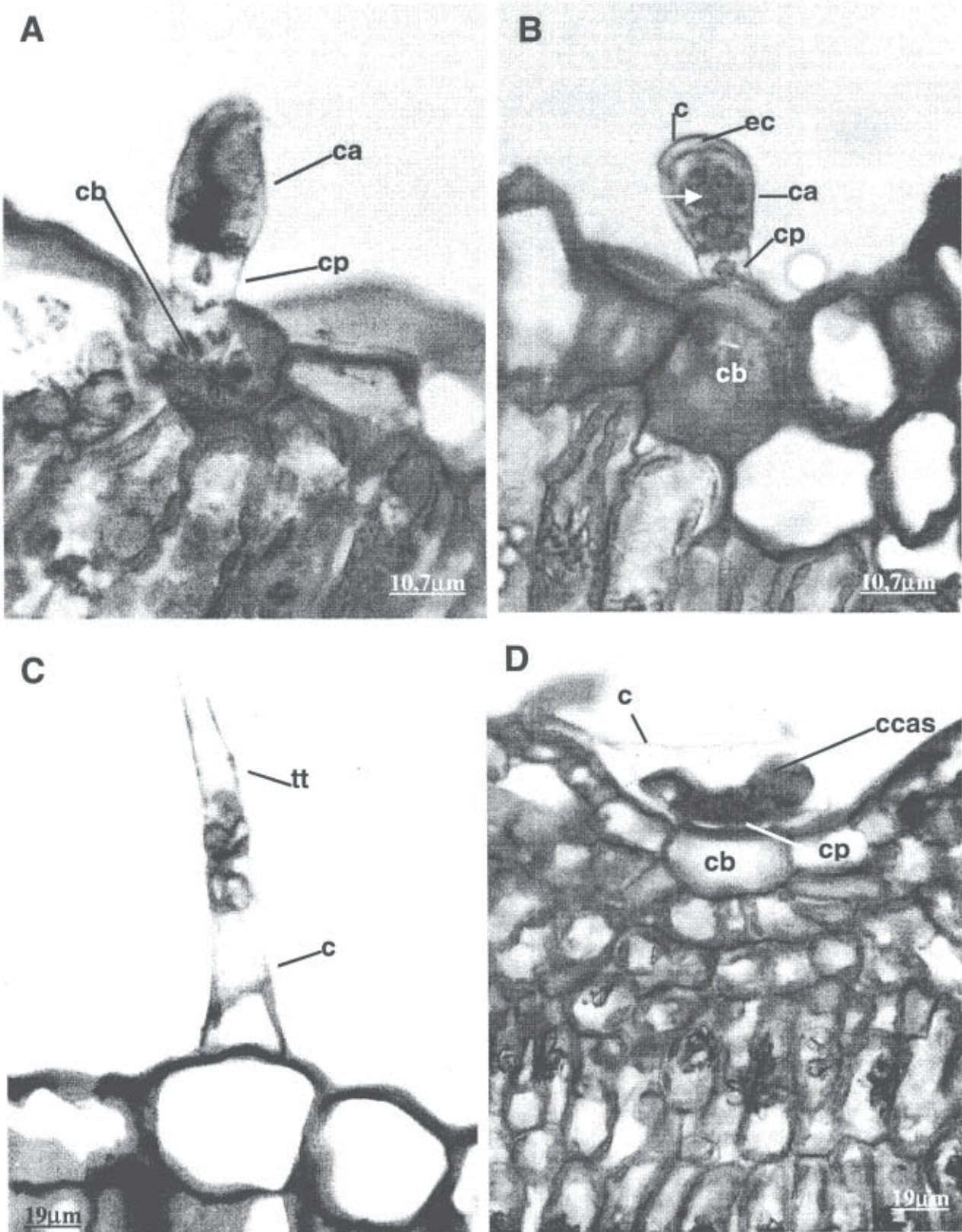
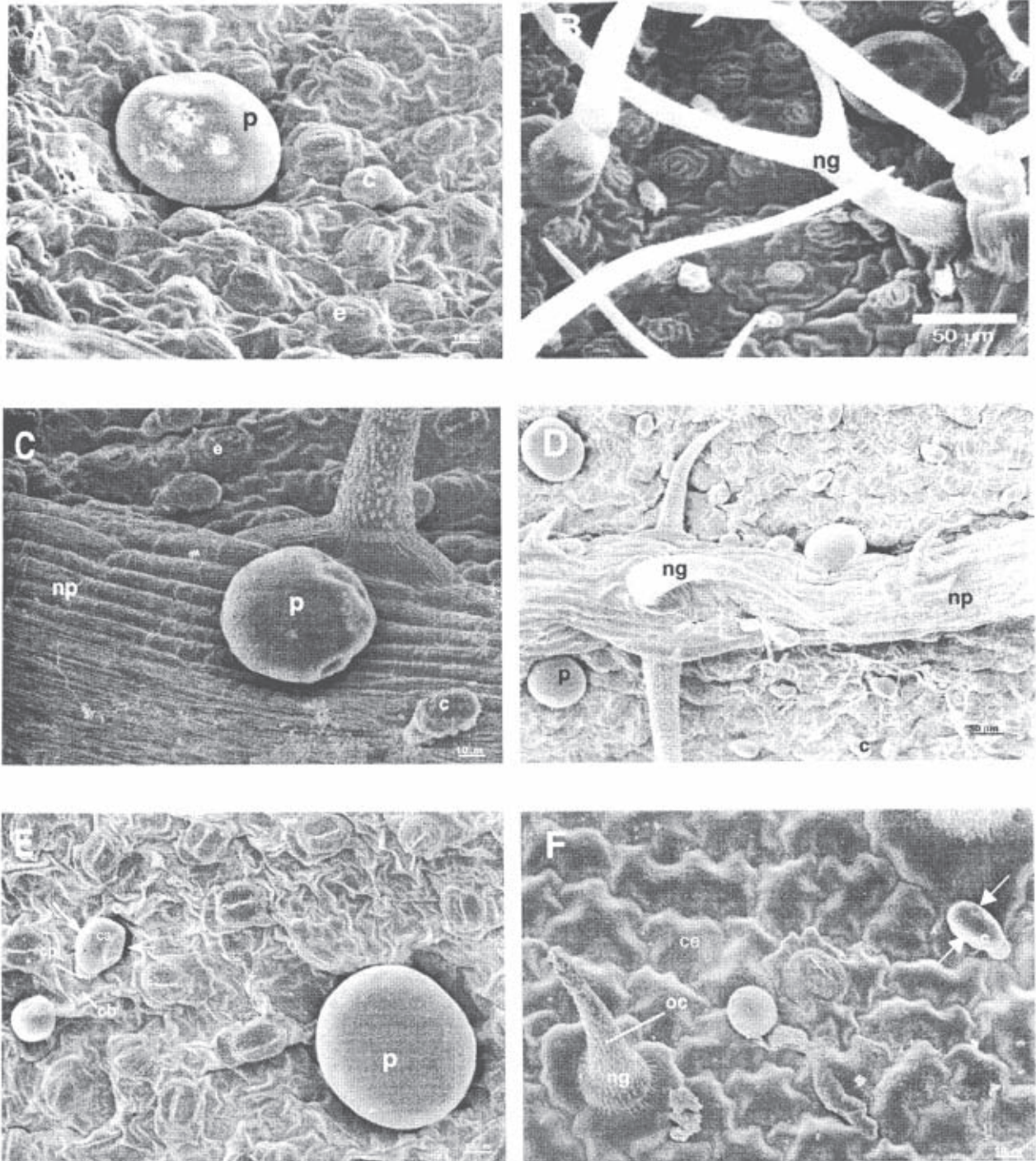


FIGURA 3 - Micrografia Eletrônica de Varredura da folha de *Mentha pulegim x spicata*. A - E. Epiderme face abaxial da folha. A. Tricoma peltado, capitado Tipo I e estômatos. B. Tricoma tector bifurcado. C. Detalhe da região central da nervura com tricomas peltado e capitado. D. Detalhe da nervura com tricoma não glandular. E. Detalhe do tricoma capitado apresentando célula basal, célula peduncular, célula apical com duas depressões laterais simétricas apresentando cutícula mais fina. F. Epiderme face adaxial com células epidérmicas de contorno sinuoso. (c) tricoma capitado; (p) tricoma peltado; (np) nervura principal; (e) estômato; (cb) célula basal epidérmica; (cp) célula peduncular; (ca) célula apical; => (seta) notar a cutícula mais fina na lateral da célula apical do tricoma capitado; (ng) tricoma não glandular, multicelular, com ornamentações na cutícula (oc); (ce) células epidérmicas.



(1999) em estudos com produção de óleo essencial em mentas, observaram que os tricomas peltados sintetizam e armazenam o óleo essencial e são formados por uma célula basal, uma célula peduncular e um conjunto radial de células secretoras, o que está de acordo com este trabalho. Gersbach (2002), observou que as folhas de *Prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae) apresentam tricomas glandulares do tipo peltado, comum a muitas espécies de Lamiaceae, que consiste de célula basal, embebida na epiderme, célula peduncular com parede de cutícula grossa e cabeça secretora formada por 16 células.

-Tricomas Capitados (Figura 2 A e B; 3 A, C, E e F); são do Tipo I, como descrito por Werker *et al.* 1985, apresentando uma célula basal, uma célula peduncular e uma célula apical secretora de forma alongada. Ascensão *et al.* (1995) descreveram os tricomas capitados encontrados em *Leonotis leonurus* com quatro células na cabeça e três células pedunculares, o que difere em relação a este trabalho.

Hanlidou *et al.* (1991) em seu trabalho com *Calamintha menthifolia* (Lamiaceae) descrevem três tipos de tricomas glandulares: (1) escama glandular com uma cabeça multicelular e com pedúnculo e célula basal unicelulares; (2) pequenos pêlos glandulares com célula periforme unicelular na cabeça, e com célula peduncular e basal unicelular; (3) pêlos glandulares com cabeça unicelular alongada, um pedúnculo bicelular e célula basal unicelular. Não foi observado nenhum desses três tipos de tricomas no presente trabalho.

A célula apical dos tricomas capitados apresenta duas depressões laterais simétricas evidenciando uma cutícula mais fina (Figura 3 E - F).

Os estômatos são na maioria anomocíticos (Figura 3 F).

As células epidérmicas comuns apresentam contornos sinuosos (Figura 3 F).

CONCLUSÃO

1. Estudos histológicos de secções transversais da lâmina foliar de *Mentha pulegium* x *spicata* mostraram que o mesofilo é formado por parênquima paliçádico uniestratificado e por parênquima lacunoso com quatro a cinco camadas de células irregulares. A epiderme apresenta-se com tricomas glandulares em ambas as faces foliares.

2. Ocorre a presença de massas cristíferas aglomeradas nas células do mesofilo e nas células epidérmicas (faces adaxial e abaxial).

3. Os estudos de microscopia eletrônica de varredura e de microscopia óptica em folhas de *Mentha pulegium* x *spicata* mostraram a presença de tricomas secretores de dois tipos: capi-

tados e peltados.

4. Ocorrem tricomas não glandulares (tectores) bifurcados e simples, ambos multicelulares, nos quais ocorrem ornamentações na cutícula.

5. Os tricomas capitados do Tipo I, apresentam uma célula basal, uma célula peduncular e uma célula apical de forma alongada, com duas depressões laterais simétricas, mostrando a cutícula mais fina.

6. Os tricomas peltados apresentam uma célula basal, uma célula peduncular curta, e um conjunto de células apicais secretoras dispostas radialmente, recobertas por cutícula.

AGRADECIMENTO

Ao Prof. Dr. Elliot Kitajima, coordenador do NAP/MEPA (Núcleo de Apoio à Pesquisa / Microscopia Eletrônica em Pesquisa Agropecuária), ESALQ – USP, pela utilização do microscópio eletrônico de varredura PV (LEO 435UP).

Ao Prof. Dr. Raymond M. Harley pela identificação da planta.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ASCENÇÃO, L., FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G. et al. *Plectranthus madagascariensis*: morphology of the glandular trichomes, essential oil composition, and its biological activity. **International Journal of Plant Sciences**, v. 159, n. 1, p. 31-8, 1998.
- ASCENÇÃO, L., MARQUES, N., PAIS, M.S. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v. 75, p. 619-26, 1995.
- BONZANI, N., ESPINAR, A. L. Estudios anatomicos de tres espécies de Lamiaceae usada em medicina popular. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 12, n. 3, p. 113-23, 1993.
- DANILATOS, G.D. Foundations of environmental scanning electron microscopy. **Advances in Electronics and Electron Physics**, v. 71, p. 109-250, 1998.
- FAHN, A. **Plant anatomy**. 4.ed. Pergamon Press, Oxford, 1990.
- GAVALAS, N., BOSABALIDIS, A. M., KOKKINI, S. Comparative study of leaf anatomy and essential oils of the hybrid *Mentha x villosa-nervata* and its parental species *M. longifolia* e *M. spicata*. **Israel Journal of Plant Sciences**, v. 46, p. 27-33, 1998.
- GERSBACH, P.V. The essential oil secretory structures of *Prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v. 89, p. 255-60, 2002.
- HANLIDOU, E., KOKKINI, S., BOSABALIDIS, A.M. et al. Glandular trichomes and essential oil constituents of *Calamintha menthifolia* (Lamiaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 177, p. 17-26, 1991.
- HARLEY, R.M., BRIGHTON, C.A. Chromosome numbers in genus *Mentha* L. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 74, p. 71-6, 1977.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- LAWRENCE, B.M. Monoterpene interrelationships in

- the *Mentha* genus: a biosynthetic discussion. In: MOOKHERJEE, B.D., MUSSINAN, C.J. **Essential Oils**. Wheaton: Allured Publishing, 1981, p. 1-81.
- LANGE, B.M., CROTEAU, R. Genetic engineering of essential oil production in mints. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 2, p. 139-44, 1999.
- LIPP-JOÃO, K.H., VIANNA, F.M.S., SILVA, G.A.A.B. et al. Levantamento preliminar das espécies de *Mentha* L. (Labiatae) ocorrentes asselvajadas e cultivadas no Rio Grande do Sul. In: **CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 36., 1990, Curitiba. Anais...** Curitiba, 1990. v.2, p. 601-18.
- OHLOFF, G. **Scent and Fragrances**. New York: Springer-Verlag, 1994.
- SOSSAE, F.C. **Anatomia e fitoquímica foliar de *Tetradedia riparia* (Hochestetter) Codd**. 1995. 85p. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- TUNER, G.W., GERSHENZON, J., NIELSON, E.E. et al. Limonene synthase, the enzyme responsible for monoterpene biosynthesis in peppermint, is localized to leucoplasts of oil gland secretory cells. **Plant Physiology**, v. 120, p.879-86, 1999.
- VERONESE, P., LI, X., NIU, X. et al. Bioengineering mint crop improvement. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 64, p. 133-44, 2001.
- WERKER, E., RAVID, U., PUTIEVSKY, E. Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of Labiatae. **Israel Journal of Botany**, v. 34, p. 31-45, 1985.