

CLEBER JOSÉ DA SILVA

**MORFOANATOMIA FOLIAR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS
ÓLEOS ESSENCIAIS DE SETE ESPÉCIES DE *Melaleuca* L.
(MYRTACEAE)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Botânica, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

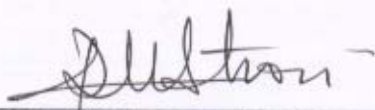
**VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2007**

CLEBER JOSÉ DA SILVA

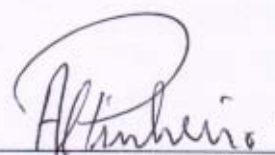
**MORFOANATOMIA FOLIAR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS
ÓLEOS ESSENCIAIS DE SETE ESPÉCIES DE *Melaleuca* L.
(MYRTACEAE)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Botânica, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

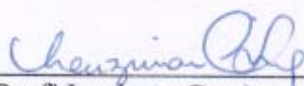
APROVADA: 06 de março de 2007.



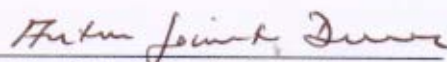
Profª Renata M. Strozi A. Meira
(Co-Orientador)



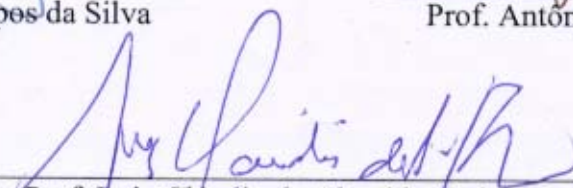
Prof. Antônio Lelis Pinheiro
(Co-Orientador)



Profª Luzimar Campos da Silva



Prof. Antônio Jacinto Demuner



Prof. Luiz Claudio de Almeida Barbosa
(Orientador)

“Ama-te menos Senhor, quem ama outras coisas

Contigo,

sem amá-las por

Tua causa.”

Santo Agostinho

À Deus, fonte e origem de todo conhecimento,

A meus Pais, Natalício Dias da Silva e Nair Dias da Silva

por me ensinarem o que vale a pena!

Aos meus queridos irmãos e irmãs

Aos amigos de todas as horas

Ao Prof. Hilbert Pires Henriques

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante.

Ao meu irmão Cássio pelo incentivo em todos os momentos.

Ao Prof. Wagner Campos de Otoni pelo apoio e incentivo.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Biologia Vegetal pela oportunidade concedida.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa pela excelente orientação, confiança e estímulo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

Aos professores Antônio Lelis Pinheiro e Renata Maria Strozi Alves Meira pela co-orientação e amizade.

Aos funcionários do Setor de Dendrologia (DEF): Verônica, Ademir e Gonzaga pelo auxílio, amizade e pelo cafezinho.

Ao Prof. Antônio Santana Ferraz pela assistência no uso do GPS (sistema de posicionamento global).

Às doutorandas Lourdes Iarema e Marcela Thadeo da Universidade Federal de Viçosa pelas valiosas sugestões durante todo o trabalho, e pela amizade.

À técnica do Laboratório de Anatomia Vegetal, Vânia Maria Moreira Valente, pela amizade, dedicação e constante assistência.

Aos técnicos do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), José Luiz e Antônio Carlos, pela assistência sempre que solicitados.

Ao Ângelo, que sempre foi prestativo e dedicado. À todos os colegas e amigos do Laboratório de Anatomia Vegetal e LASA, pela agradável convivência e ajuda no que foi necessária durante o desenvolvimento do trabalho, especialmente, Fred, Jaqueline Dias, Karina Lucas, Flávia Bonizol, Josiane e Rosiane, Flaviano, e Ana Paula.

Ao grande amigo e irmão João Tomaz e pela presença e apoio.

Aos queridos amigos Claudson, Cristiana, Marcelo, Kamilla, Viviane, Peterson, Shirlene e Sheila, pelo companheirismo e amizade. Aos amigos da república, Márcio e Fabiano, pela compreensão, convívio, amizade e constante assistência técnica na área de informática.

Enfim, aos não citados, mas que de muitas formas me auxiliaram na realização deste trabalho. Deus abençoe a todos.

BIOGRAFIA

CLEBER JOSÉ DA SILVA, filho de Natalício Dias da Silva e Nair Dias da Silva, nasceu em Guanhães, estado de Minas Gerais em 27 de novembro de 1975.

Em março de 1994 iniciou o Curso de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, diplomando-se em Janeiro de 1999.

Durante este período, foi bolsista por dois anos do programa de Bolsas do CNPq, onde desenvolveu pesquisas na área de Química dos Produtos Naturais.

Exerceu a Licenciatura em escolas da rede pública e particular no período e 2000 a 2004.

Em fevereiro de 2005 ingressou no programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, área de concentração: Anatomia e Caracterização Química de Plantas Vasculares, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, MG, submetendo-se à defesa de dissertação em março de 2007.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1: ESTUDO COMPARATIVO DO ÓLEO ESSENCIAL DE SETE ESPÉCIES DE <i>Melaleuca</i> L. (MYRTACEAE) CULTIVADAS NO BRASIL	
1. RESUMO/ABSTRACT.....	4
2. INTRODUÇÃO.....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	6
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	8
5. CONCLUSÃO.....	18
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
CAPÍTULO 2: ESTUDO COMPARATIVO DA MORFOANATOMIA FOLIAIR DE SETE ESPÉCIES DE <i>Melaleuca</i> L. (MYRTACEAE) CULTIVADAS NO BRASIL	
1. RESUMO/ABSTRACT.....	25
2. INTRODUÇÃO.....	26
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5. CONCLUSÕES.....	44
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
CAPÍTULO 3: HISTOQUÍMICA DAS CAVIDADES SECRETORAS DE TRÊS ESPÉCIES DE <i>Melaleuca</i> L. (MYRTACEAE) CULTIVADAS NO BRASIL	
1. RESUMO/ABSTRACT.....	50
2. INTRODUÇÃO.....	51
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	52
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
5. CONCLUSÃO.....	65
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
CONCLUSÕES GERAIS.....	71
ANEXOS – Cromatogramas e fórmulas estruturais dos componentes dos óleos essenciais das espécies de <i>Melaleuca</i>	72

RESUMO

SILVA, Cleber José da, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, março de 2007.
Morfoanatomia foliar e composição química dos óleos essenciais de sete espécies de *Melaleuca* L. (Myrtaceae) Orientador: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Co-orientadores: Antônio Lelis Pinheiro e Renata Maria Strozi Alves Meira.

São apresentados dados relativos à anatomia foliar, composição química e histolocalização dos óleos essenciais de sete espécies de *Melaleuca* L. cultivadas no município de Viçosa, estado de Minas Gerais – Brasil. As espécies de *Melaleuca* apresentaram padrões diferenciados de composição de óleo essencial. Os componentes majoritários dos óleos essenciais foram terpinen-4-ol (53,7% em *M. alternifolia* Cheel), 1,8-cineol (80,2% em *M. armillaris* Sm., 79,5% em *M. ericifolia* Sm., 43,7% em *M. cajuputi* Roxb subespécie *cajuputi* Powell, 41,0% em *M. cajuputi* Roxb subespécie *platyphylla* Barlow), viridiflorol (71,0% em *M. quinquenervia* (Cav.) S.T.Blake) e metileugenol (96,6% em *M. leucadendra* (L.) L). Os óleos essenciais de *M. quinquenervia* e *M. leucadendra* consistem quimiótipos ricos em viridiflorol e metil eugenol, respectivamente. A avaliação morfológica e anatômica das sete espécies de *Melaleuca* revelou a presença de elementos universais da família Myrtaceae. Caracteres xeromórficos foram identificados em todas as espécies bem como a presença de estruturas semelhantes a lenticelas nas espécies pecioladas. Os estudos de histolocalização revelaram ser as cavidades secretoras os sítios de produção e acúmulo dos óleos essenciais. Foi evidenciada também a presença de compostos fenólicos nas células do parênquima lacunoso e do epitélio secretor dos canais, indicando serem estes os prováveis sítios de produção e acúmulo destes compostos.

ABSTRACT

SILVA, Cleber José da, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, March of 2007. **Leaf morphoanatomy and chemical composition of seven *Melaleuca* L. (Myrtaceae) species.** Adviser: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa. Co-Advisers: Antônio Lelis Pinheiro e Renata Maria Strozi Alves Meira.

Results on the compared leaf anatomy, chemical composition and histolocalization of the essential oils of the species of *Melaleuca* L. growing in the municipal district of Viçosa, state of Minas Gerais - Brazil. The various *Melaleuca* species showed differences within their relative essential oil composition. Each of the oils analyzed revealed a dominant component: terpinen-4-ol (53.7%) for *M. alternifolia*, 1,8-cineole for *M. armillaris* (80.2%), *M. ericifolia* (79.5%), *M. cajuputi* Roxb subspecies *cajuputi* (43.7%), and *M. cajuputi* Roxb subspecies *platyphylla* (41.0%). *M. quinquenervia* and *M. leucadendra* presented chemotypes with volatile oils rich in viridiflorol (71.0%) and methyleugenol (96.6%), respectively. The morphologic and anatomical evaluation of the seven species of *Melaleuca* revealed the presence of universal elements of the family Myrtaceae. Xeromorphic features were identified in all the species as well as the presence of similar structures the lenticels in the species peciolateds. The histolocalization studies revealed to be the secretors cavities the production site and accumulation of the essential oils. It was also evidenced the presence of fenolic compounds in the cells of the spongy parenchyma and of the epithelium secretor of the channels, indicating be these probable production sites and accumulation of these composed.

INTRODUÇÃO GERAL

Os óleos essenciais são produtos naturais produzidos pelas plantas e armazenados em estruturas anatômicas altamente especializadas como tricomas glandulares, células oleíferas, cavidades secretoras, ductos e laticíferos (Fahn, 1979; Roshina e Roshina, 1993). Do ponto de vista econômico são fontes de substâncias de usos variados nos diversos ramos da indústria.

A família Myrtaceae, com cerca de 130 gêneros e aproximadamente 4000 espécies de distribuição predominantemente tropicais e subtropicais, concentradas na região neotropical e na Austrália é uma importante fonte de óleos essenciais. Representa uma das maiores famílias da flora brasileira, com 23 gêneros e 1000 espécies (Souza e Lorenzi, 2005). Encontra-se dividida em duas grandes subfamílias, Myrtoideae (predominante na América tropical e subtropical e compreende espécies com frutos carnosos baciformes e folhas opostas) e Leptospermoideae (ocorre predominantemente na Austrália e Polinésia e reúne espécies com fruto seco, geralmente cápsulas loculicidas e folhas alternas). O gênero *Melaleuca* pertencente à subfamília Leptospermoideae, ocorre predominantemente na Austrália e compreende aproximadamente de 150 a 230 espécies descritas em todo o mundo (Boland et al., 1984; Cronquist, 1981; Harwod, 1999, Heywood 1993).

As folhas e caule de várias espécies de *Melaleuca* produzem óleo essencial de uso medicinal (Boland et al., 1984), com atividade fungicida (Tong et al., 1992), acaricida (Iori et al., 2005), sendo também utilizado no tratamento de picadas de insetos e infecções de pele (Budhiraja et al., 1999), tratamento de doenças como Herpes simples (Carson et al., 1998), sendo também utilizados como antiséptico e expectorante, para tratamento de distúrbios gastrointestinais (Kitanov et al., 1992), tendo enfim, amplo uso, desde a indústria de perfumes a componente de germicidas e pesticidas (Boland et al., 1984).

Em muitas espécies de plantas aromáticas, variações na constituição química do óleo produzido são utilizadas para identificação de distintos quimiótipos (Brophy e Doran, 1996). Estudos preliminares indicam a existência de quimiótipos em populações de espécies de *Melaleuca* (Wheeler, 2006). Assim as espécies de *Melaleuca* cultivadas no Brasil podem constituir quimiótipos diferentes dos encontrados em outros ambientes, podendo mesmo haver quimiótipos de maior valor comercial para produção de óleos essenciais que podem ter importantes implicações comerciais.

O estudo das estruturas secretoras e o material secretado podem fornecer importantes contribuições para a anatomia sistemática (Metcalf e Chalk, 1983). Uma das características marcantes da família Myrtaceae é a presença de cavidades secretoras de óleos que possuem importância taxonômica (Solender, 1908; Metcalf e Chalk, 1950). Apesar do elevado potencial de produção de óleos essenciais das espécies do gênero *Melaleuca*, poucos são os estudos anatômicos relativos a este gênero. Considerando-se a carência de dados sobre as estruturas secretoras deste gênero, o presente trabalho tem por objetivo fornecer dados estruturais que poderão ser utilizados como subsídio para estudos farmacológicos, eco-fisiológicos e taxonômicos.

Considerando-se também a atividade biológica do óleo essencial do gênero *Melaleuca*, bem como seu uso na medicina, perfumaria, indústria farmacêutica, dentre outras, propõe-se o estudo químico do óleo, bem como o estudo anatômico das folhas de *M. alternifolia* Cheel, *M. armillaris* Sm., *M. ericifolia* Sm., *M. cajuputi* Roxb subespécie *cajuputi* Powell, *M. cajuputi* Roxb subespécie *platyphylla* Barlow, *M. quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake e *M. leucadendra* (L.) L. cultivadas no Brasil.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁRICAS

Boland DJ, Brooker MIH, Chippendale GM, Hall N, Hyland BPM, Johnston RD, Kleinig DA, Turner JD. 1984. *Forest Trees of Australia*. Nelson and CSIRO, Melbourne.

Brophy JJ, Doran JC. 1996 *Essential oils of tropical Asteromyrtus, Callistemon and Melaleuca species*. Australian. Canberra: Centre for International Agricultural Research.

Budhiraja SS, Cullum ME, Sioutis SS, Evangelista I, Habanova ST. 1999. Biological activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil component, terpinen-4-ol, in human myelocytic cell line HL-60. *Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics* 22:447-453.

Carson CF, Riley TV, Cookson BD. 1998. Efficacy and safety of tea tree oil as a topical antimicrobial agent. *Journal of Hospital Infection* 40:175-178.

Cronquist A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University: New York.

Fahn A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press Inc., London.

Heywood VH. 1993. *Flowering plants of the world*. London, B.T. Barsford Ltd.

Howard RA. 1979. The petiole. *In: Anatomy of the dicotyledons* (C.R. Metcalfe e L. Chalk, eds.). Clarendon Press, Oxford, v.1, p.88-96.

Iori A, Grazioli D, Gentile E, Marano G, Salvatore G. 2005. Acaricidal properties of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree oil) against nymphs of *Ixodes ricinus*. *Veterinary Parasitology* **129**: 173-176.

Kitanov GM, Van DT, Assenov I. 1992. Flavonols from *Melaleuca leucadendron* leaves. *Fitoterapia* **68** (4): 379-380.

Metcalfe CR, Chalk L. 1983. *Anatomy of the Dicotyledons: Wood Structure and Conclusion of the General Introduction*. v.2. New York, Oxford University Press.

Roshina VV, Roshina VD. 1993. *The secretory function of higher plants*. Springer-Verlag, New York.

Ruiz PG. 2002. *Productos naturales*. Universidad Pública de Navarra.

Solereder H. 1908. *Systematic anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford, v.1, p.350-355.

Souza VC, Lorenzi H. 2005. *Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora Brasileira, baseado em APG/II*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.

Tong MM, Altman PM, Barnetson R S. 1992. Tea tree oil in the treatment of *Tinea pedis*. *Australasian Journal of Dermatology* **33**: 145-149.

Wheeler GS, Massey LM, Southwell IA. 2003. Dietary influences on terpenoids sequestered by the biological control agent *Oxyops vitiosa*: effect of plant volatiles from different *Melaleuca quinquenervia* chemotypes and laboratory host species. *Journal of Chemical Ecology* **29**: 188-207.

CAPÍTULO 1:
ESTUDO COMPARATIVO DO ÓLEO ESSENCIAL DE SETE
ESPÉCIES DE *Melaleuca* L. (MYRTACEAE) CULTIVADAS NO
BRASIL

RESUMO: A composição química do óleo essencial de sete espécies de *Melaleuca* cultivadas no município de Viçosa-Brasil foram analisadas por CG e CG-MS. As espécies apresentaram padrões diferenciados na composição relativa do óleo essencial. A análise revelou como componente majoritário: terpinen-4-ol (53,7%) para *M. alternifolia*, 1,8-cineol para *M. armillaris* (80,2%), *M. ericifolia* (79,5%), *M. cajuputi*, subespécie *cajuputi* (43,7%), e *M. cajuputi*, subespécie *platyphylla* (41,0%); viridiflorol (71,0%) em *M. quinquenervia* e metil eugenol (96,6%) em *M. leucadendra*.

ABSTRACT: The compositions of the essential oils obtained from seven species of *Melaleuca* grown in the municipal district of Viçosa, state of Minas Gerais-Brazil were analyzed both by GC and CG-MS. The various *Melaleuca* species showed differences within their relative essential oil composition. Each of the oils analyzed revealed a dominant component: terpinen-4-ol (53,7%) for *M. alternifolia*, 1,8-cineole for *M. armillaris* (80,2%), *M. ericifolia* (79,5%), *M. cajuputi*, subspecies *cajuputi* (43,7%), and *M. cajuputi*, subspecies *platyphylla* (41,0%); viridiflorol (71,0%) in *M. quinquenervia* and methyl eugenol (96,6%) in *M. leucadendra*.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Melaleuca*, pertencente à família Myrtaceae ocorre predominantemente na Austrália e contém aproximadamente de 150 a 230 espécies descritas em todo o mundo (Boland et al., 1984; Cronquist, 1981; Harwod, 1999). As folhas e caule de várias espécies de *Melaleuca* produzem óleo essencial de forte aroma e de uso medicinal (Boland et al., 1984).

Estudos recentes demonstram a interação dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* com membranas celulares potencializando o tratamento de melanoma humano (Giordani et al., 2006), bem como sua atividade antiinflamatória (Caldefie-Chezet et al., 2006), antimicrobiana (Carson et al., 2006, Ferrarese et al., 2006, Silva et al., 2003), fungicida (Tong et al., 1992), e acaricida (Iori et al., 2005), e seu reconhecido efeito para tratamento de picadas de inseto e infecções de pele (Budhiraja et al., 1999). Boland et al. (1984) descreveram *M. alternifolia* como uma das mais importantes espécies produtoras de óleo essencial, pois seu óleo não é tóxico nem irritante em comparação com seu efeito germicida, tendo eficiente poder de penetração cutânea, eliminando infecções subcutâneas e levando a uma rápida cicatrização. Carson et al. (1998) descrevem a atividade de amplo espectro dos óleos essenciais de *M. alternifolia*, incluindo atividade contra o vírus do herpes simples (HSV), agente causador do herpes labial recorrente. Além destes usos medicinais, seus compostos são utilizados pela indústria cosmética em várias formulações (Riedl, 1997). O interesse crescente na produção de óleo essencial desta espécie tem levado ao desenvolvimento de técnicas de cultura de tecidos para se verificar a influência genética e ambiental na composição do óleo de *M. alternifolia* (Paschen et al., 2006).

Outras espécies como *M. leucadendra* tem seus óleos utilizados na Malásia e Indonésia para tratamento de dor de dente, várias doenças da pele e tratamento de cólicas (Yoshida et al., 1996). Segundo Kitanov et al. (1992) as folhas desta espécie têm diversos usos na medicina popular, destacando-se seu uso como anti-séptico, expectorante, para distúrbios gastrointestinais, dentre outros.

M. linariifolia apresenta em seu óleo essencial, alto teor de 1,8-cineol, o que lhe confere grande atividade germicida, sendo utilizado também na formulação de sabões. Já *M. bracteata* apresenta o componente metil eugenol, amplamente utilizado, desde a indústria de perfumes a componente de germicidas e pesticidas (Boland et al., 1984).

Em muitas espécies de plantas aromáticas como da família Myrtaceae, variações na constituição química do óleo produzido são utilizadas para identificação de distintos quimiótipos (Brophy e Doran, 1996). Estudos preliminares indicam a existência de dois quimiótipos de *M. quinquenervia* em diversas populações da Flórida: quimiótipo I (predominância do sesquiterpeno *E*-nerolidol), e o quimiótipo II (predominância do sesquiterpeno viridiflorol), sendo estes facilmente distinguíveis por análise de CG e CG-MS dos constituintes dos óleos essenciais das folhas (Wheeler et al., 2003).

Teorias modernas estabelecem que todos os metabólitos secundários se expressam como resultado de estímulos e se integram com os sistemas receptores adequados (Zhao et al., 2005). Isto indica que um organismo pode produzir padrões completamente diferentes de metabólitos dependendo das condições ambientais, duração e intensidade de estresse, composição e plasticidade genética das plantas. Assim as espécies de *Melaleuca* cultivadas no Brasil podem constituir quimiótipos diferentes dos encontrados em outros ambientes, podendo mesmo haver quimiótipos de maior valor comercial para produção de óleos essenciais que podem ter importantes implicações comerciais.

Considerando a atividade biológica do óleo essencial do gênero *Melaleuca*, bem como seu uso na medicina, perfumaria e indústria farmacêutica, objetivou-se realizar um estudo comparativo dos óleos essenciais de espécies do referido gênero, cultivadas no Brasil, identificando seus possíveis quimiótipos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e Identificação das Plantas

Melaleuca alternifolia Cheel, *Melaleuca leucadendra* (L.) L, *Melaleuca ericifolia* Sm., *Melaleuca armillaris* Sm., *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake e *Melaleuca cajuputi* Roxb. subesp. *cajuputi* Powell, and *Melaleuca cajuputi* Roxb. subesp. *platyphylla* Barlow foram coletadas nos locais indicados no Quadro 1.1, sendo plantas adultas e cultivadas. A plantação de *M. alternifolia* foi estabelecida há 10 anos e as demais há aproximadamente 4 anos. Em seguida foram identificados, herborizados e incorporados ao acervo do Herbário VIC (registradas sob os números 30839 a 30845) do Departamento de Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Quadro 1.1 Locais de coleta dos espécimes de *Melaleuca*

Localidade	Espécime	Altitude	Latitude	Longitude
Setor de Dendrologia do Departamento de Engenharia Florestal da UFV.	1	697m	20° 46' 24.4'' S	42° 52' 28.9'' W
Sítio Refúgio, Município de São Geraldo, distrito de Monte Celeste – MG.	2,3,4,5,6,7.	762m	20° 52' 49.6'' S	42° 51' 42.1'' W

1. *M. alternifolia*; 2. *M. armillaris*; 3. *M. ericifolia*; 4. *M. cajuputi*, subespécie *cajuputi*; 5. *M. cajuputi*, subespécie *platyhylla*; 6. *M. quinquenervia*; 7. *M. leucadendra*.

Extração e Análise dos óleos essenciais

As folhas das plantas foram coletadas separadamente em pontos aleatórios da copa das árvores. Cada amostra foi subdividida em três porções de 100 gramas, picadas e submetidas à extração. *M. alternifolia* e *M. armillaris* possuem folhas aciculares, inseridas em caules finos, tornando inviável a separação destas partes para extração comercial. Neste trabalho analisou-se separadamente a composição química e o teor do óleo do caule e da folhas das referidas espécies. O processo de extração do óleo essencial utilizado em todas as amostras foi a hidrodestilação, por três horas consecutivas e em triplicata, utilizando-se o aparelho tipo Clevenger modificado. O óleo obtido foi recolhido e acondicionado em frascos de vidro âmbar e mantido sob atmosfera de Nitrogênio à temperatura de aproximadamente 0 °C, até o momento da análise por GC-MS.

A determinação do peso seco foi realizada para cada amostra (2 g, à temperatura de 103 ± 2 °C durante 24 horas) de acordo com métodos publicados (ASAE, 2000). Cada determinação foi feita em triplicata.

Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas (CG-EM)

As amostras de óleo essencial foram analisadas por cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massas (CG e CG-EM, respectivamente), utilizando-se equipamento Shimadzu, modelo GC17A, com detector seletivo de massa (Shimadzu), modelo QP5000. Foi utilizada coluna do tipo sílica fundida, com fase estacionária DB-5 (espessura do filme de 0,25 µm), de 30 m do comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno.

As condições utilizadas foram: temperatura do injetor igual a 220 °C; detector de ionização de chama (FID) a 300 °C; temperatura da coluna variando de 60-240 °C a

3°C/minuto, permanecendo a 240 °C por 15 minutos; fluxo de gás de arraste (He) foi de 1 mL/minuto; pressão inicial da coluna 19,5 psi; razão de split 1:10; volume injetado 1 µL (solução a 1 % em hexano). As condições do EM foram: energia de impacto 70 eV; velocidade de varredura 1000; intervalo de varredura de 0,5, e fragmentos detectados de 45 Da a 450 Da. As análises foram realizadas em triplicata.

A identificação dos compostos foi feita por meio de comparação dos espectros de massas da amostra, com aqueles existentes no banco de dados (Wiley 330) do aparelho e também pelos índices de retenção relativos calculados a partir das injeções de uma mistura de alcanos lineares (Davies, 1990; Adams, 1995; Girard, 1996, Van den Dool e Kratz, 1963).

Todos os resultados foram interpretados estatisticamente por meio de análise de variância das médias das repetições.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rendimento do óleo essencial

O rendimento médio do óleo essencial, em porcentagem, extraído da matéria fresca das espécies de *Melaleuca* pode ser observado na Figura 1. *M. alternifolia*, *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, *M. armillaris* e *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* apresentaram maior rendimento (4%, 4%, 3,9% e 3,4% respectivamente), ao passo que *M. leucadendra*, *M. quinquenervia* e *M. ericifolia* apresentaram menor rendimento (1,5% 1,5% e 0,7% respectivamente). Brophy e Doram (2004) verificaram que a composição do óleo de *M. ericifolia* ocorrente na Austrália e Tasmânia variou quantitativamente de acordo com a localização da espécie o que aponta uma associação aparente com latitude de ocorrência, porém não se verificou variação qualitativa do óleo essencial das populações analisadas. Para as espécies *M. alternifolia* e *M. armillaris* os teores do óleo essencial do caule e folha foram avaliados separadamente.

Os teores encontrados para as folhas foram 4% e 3,9%; e para o caule foram 0,8% e 0,02% (*M. alternifolia* e *M. armillaris*, respectivamente). O maior teor de óleo encontrado nas folhas das duas espécies, provavelmente se deve ao fato deste órgão estar exposto à maior incidência de radiação solar e também ser mais propenso ao ataque de herbívoros e patógenos. Esses fatores poderiam levar à maior produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's), o que resultaria em maior acúmulo de óleos essenciais nas estruturas secretoras

das folhas (Zhao et al., 2005). A explosão oxidativa é uma resposta de defesa da planta após reconhecimento do patógeno, conduzindo à reação de hipersensibilidade (HR). Esta resposta deve-se à geração de ERO's tais como H_2O_2 e O_2^- e OH^- que possuem várias funções na resposta de defesa da planta. O H_2O_2 , por exemplo, promoveu o acúmulo do isoflavonóide gliceolina em soja (*Glycine max*) (Degousee et al., 1994), *p*-cumaroilactopamina em tubérculos de tomate (Matsuda et al., 2001), alcalóides indólicos em *Catharanthus roseus* (Zhao et al., 2001), tcibulina 1 e 2 em culturas de *Allium cepa* (Kravchuk et al., 2003), saponina em ginseng (Hu et al., 2003), β -tujaplicina em cipreste Argentino (*Cupressus lusitanica*) (Zhao e Sakai, 2003). Em outras plantas O_2^- é o mediador para a produção de metabólitos secundários levando ao acúmulo de fitoalexinas (furanocumarina) em células de cultura de salsa (Jabs et al., 1997), diterpenos em tubérculos de tomate (Mehdy, 1994), medicarpina em alfafa (Tang e Smith, 2001), e capsidiol em tabaco (Perrone et al., 2003). Outro fator que pode contribuir para o menor acúmulo de óleos essenciais no caule é a presença de células suberificadas na periderme que se constituem uma barreira térmica e ao ataque de microrganismos e herbívoros, processos associados à produção de ERO's e conseqüente acúmulo de metabólitos secundários, dentre estes os óleos essenciais.

Observou-se também composição química diversa do óleo de ambas as partes (caule e folha) analisadas (Tabela 1.1).

Composição do óleo essencial

A composição dos óleos essenciais das sete espécies de *Melaleuca* estudadas é apresentada na Tabela 1.1.

As espécies de *Melaleuca* apresentam padrão diferenciado na composição do óleo essencial. Os componentes encontrados em maiores proporções foram terpinen-4-ol (53,7% em *M. alternifolia*); 1,8-cineol (80,2% em *M. armillaris*, 79,5% em *M. ericifolia*, 43,7% em *M. cajuputi*, subespécie *cajuputi*, 41,0% em *M. cajuputi*, subespécie *platyphylla*). A presença de altas concentrações de 1,8-cineol sugere que estas espécies podem ser utilizadas como fonte alternativa deste composto, que apresenta desde uso medicinal como broncodilatador, expectorante, anti-séptico, dentre outros (Albornoz, 1992, Morton, 1981) a acaricida. Na concentração de 10,6% provocou a mortalidade de 100% das larvas do carrapato *Boophilus microplus* em apenas 5 minutos (Prates et al., 1998). Está presente no óleo essencial das folhas de diversas espécies de *Eucalyptus*

(Myrtaceae), variando conforme a espécie: *Eucalyptus citriodora* (55,0%), *Eucalyptus globulus* (71,0%), *Eucalyptus punctata* (66,0%), *Eucalyptus maculata* (51,0%), *Eucalyptus maidessii* (70,0%), *Eucalyptus smithii* (84,0%) e outros (Chalchat et al., 1997). Estas espécies de Melaleuca ricas em 1,8 cineol podem, portanto ter aplicações semelhantes àquelas descritas para espécies deste gênero, podendo ser utilizado como fonte alternativa de 1,8-cineol. Para *M. quinquenervia* identificou-se como componente majoritário viridiflorol (71,0%) e Metil eugenol foi o maior constituinte do óleo essencial de *M. leucadendra* (96,6%) (Figura 2).

Segundo Shelton et al. (2004), os mais importantes componentes do óleo essencial de *M. alternifolia* são os monoterpenos 1,8-cineol, terpinoleno e terpinen-4-ol. O teor destes compostos é utilizado para se caracterizar quimiótipos ocorrentes na espécie. Penfold (1948) identificou três quimiótipos de acordo com as concentrações de 1,8-cineol: abaixo de 8,0% , de 30,0% a 45,0% e de 50,0% a 64,0% deste composto. Em 1994, Butcher et al. acrescentaram mais dois quimiótipos baseados na proporção de terpinoleno/terpinen-4-ol: um com 28,0% a 57,0% de terpinoleno e 1,0% a 2,0% de terpinen-4-ol e outro com 10,0% a 18,0% de terpinoleno e 15,0% a 20,0% de terpinen-4-ol. A Organização de Padronização Internacional (ISO 4370) estabeleceu que o óleo comercial de *M. alternifolia* deve apresentar níveis mínimos de 30,0% de terpinen-4-ol e máximos de 15,0% de 1,8-cineol (ISO, 1996). Isto se deve ao fato de que a qualidade anti-séptica atribuída ao óleo desta espécie ocorre em função dos níveis do monoterpene oxigenado terpinen-4-ol (Shelton et al., 2004). Da mesma forma 1,8-cineol é apontado como causador de irritação na pele mesmo em proporções abaixo de 10,0%. Assim, teores abaixo de 7,0% são preferidos para produção de cosméticos (Caboi et al., 2002). A análise química dos óleos essenciais de *M. alternifolia* cultivadas no município de Viçosa, mostrou que as concentrações dos principais constituintes estão de acordo com as especificações da ISO 4730 (2004) (Tabela 1.2), considerando-se que as concentrações dos constituintes podem variar de acordo com a população de plantas utilizada, clima, solo, idade das folhas e tempo de extração. (Russell e Southwell, 2002 e 2003; Southwell e Russell, 2002) Estudos revelam que para terpinen-4-ol as concentrações variam de 28,6% a 57,9%; γ -terpineno de 9,5% a 28,3%; α -terpineno de 4,6% a 12,8%; 1,8-cineol de 0,5% a 17,7%; ρ -cimeno de 0,4% a 12,4%; α -terpineol de 1,5% a 7,6% e para limoneno de 0,4% a 3,1% (Leach et al., 1993; Johns et al., 1992; Brophy et al., 1989).

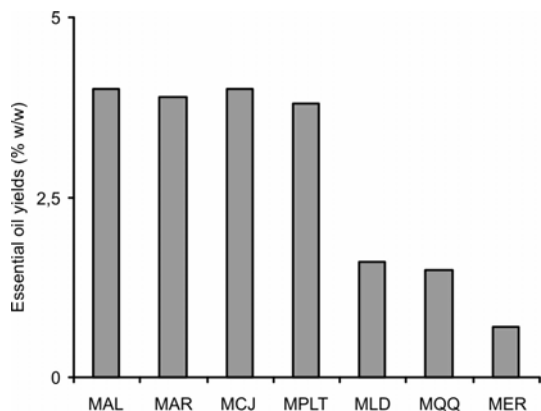


Figura 1 – Rendimento (%) do óleo essencial das folhas das sete espécies de *Melaleuca* em relação à matéria seca. **MAL** = *M. alternifolia*; **MAR** = *M. armillaris*; **MCJ** = *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*; **MPL** = *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*; **MLD** = *M. leucadendra*; **MQQ** = *M. quinquenervia*; **MER** = *M. ericifolia*

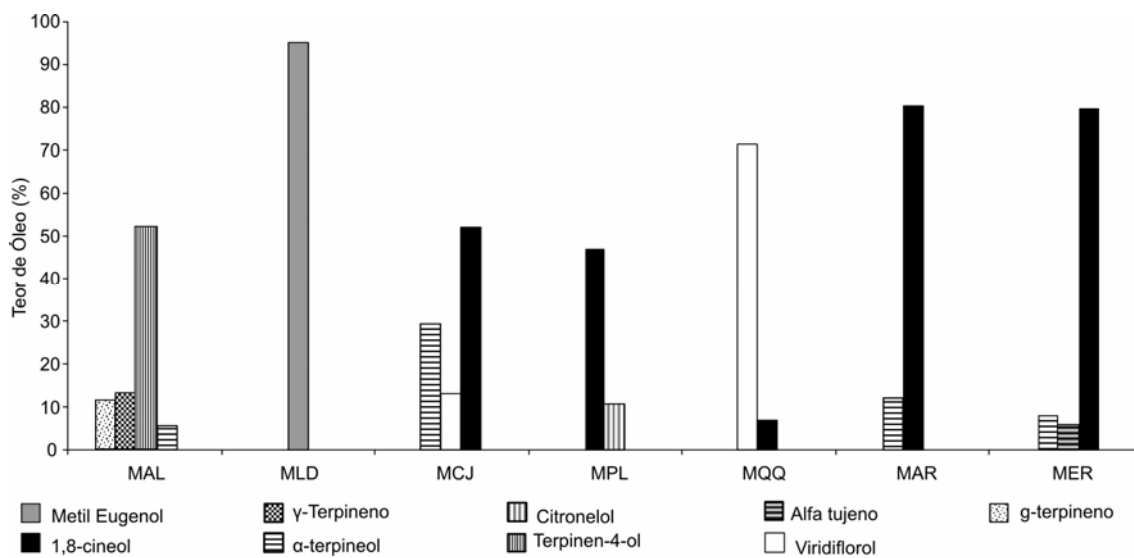


Figura 2 – Padrão diferenciado dos principais componentes dos óleos essenciais das sete espécies de *Melaleuca*. **MAL** = *M. alternifolia*; **MLD** = *M. leucadendra*; **MCJ** = *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*; **MPL** = *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*; **MQQ** = *M. quinquenervia*; **MAR** = *M. armillaris*; **MER** = *M. ericifolia*.

Silva et al. (2002) realizaram estudos submetendo espécimes de *M. alternifolia* cultivadas em Viçosa a diversos níveis de estresse hídrico. Mesmo nestas condições, mantiveram baixas concentrações de 1,8-cineol (1,8% a 3,5%) e proporções similares às encontradas neste estudo dos principais componentes do óleo (Tabela 1.2). Em outro estudo os mesmos autores (Silva et al., 2003), analisaram as variações das concentrações dos principais componentes das amostras do óleo essencial desta espécie em diversos horários de coleta, observando-se que as concentrações de 1,8 cineol variaram de 0,33% a 1,33% e terpinen-4-ol de 49,7 a 53,4%. Estes dados apontam para a presença do quimiótipo com concentrações abaixo de 8,0% de 1,8-cineol nas populações cultivadas em Viçosa.

Poucos trabalhos referentes à espécie *M. armillaris* foram encontrados na literatura, sobretudo em relação à composição química dos óleos essenciais. Neste estudo identificou-se o 1,8-cineol, (80,2%) como componente majoritário desta espécie seguido de α -terpineol (9,4%) na folha. No caule, verificou-se a presença de α -terpineol (15,0%) como componente majoritário, seguido por Globulol (17,6%), 1,8-cineol (14,3%) e *E*-cariofileno (13,6%). (Tabela 1.1). Farag et al. (2004) analisaram a composição química do óleo das folhas de *M. armillaris* provenientes do Egito, encontrando teores de 33,9% de 1,8-cineol, seguido por 18,8% de terpinen-4-ol. Aboutabl et al. (1991) em seu estudo do óleo essencial das folhas desta espécie ocorrentes Egito reportou a presença de 33,7% de 1,8-cineol, seguido de 24,8% de terpinen-4-ol. O óleo essencial de *M. armillaris* analisado no presente estudo apresentou maiores proporções do principal componente em relação àquelas espécies cultivadas no Egito. O ambiente no qual o vegetal se desenvolve exerce grande influencia sobre a produção e a composição química dos óleos essenciais. Fatores como temperatura, umidade relativa, duração total de exposição ao sol e ao regime de ventos, bem como as condições edáficas, dentre outras, exercem influencia direta na produção de óleo essencial (Simões e Sptizer, 1999). Shelton et al. (2004) sugere maior influencia das condições ambientais sobre a composição do óleo essencial dos diversos quimiótipos de *M. alternifolia*.

Tabela 1.1 – Teores (%) dos componentes identificados dos óleos essenciais das sete espécies de *Melaleuca* determinados por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. **IR** = índice de Retenção calculado; **MCJ** = *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*; **MER** = *M. ericifolia*; **MLD** = *M. leucadendra*; **MPT** = *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*; **MQQ** = *M. quinquenervia*; **MAL** = *M. alternifolia*; **MAR** = *M. armillaris*.

CONSTITUINTE	IR	MCJ	MER	MLD	MPT	MQQ	MAL*		MAR*	
							Caule	Folha	Caule	Folha
α -tujeno	932	-	5,9	-	3,1	-	-	-	-	4,8
α -pineno	935	2,8	-	-	-	4,0	-	-	-	-
Sabineno	976	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
β -pineno	976	0,9	-	-	1,2	-	-	-	-	1,6
Mirceno	990	-	-	-	1,6	-	-	-	-	2,5
δ -careno	1014	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-
Terpineno	1019	-	-	-	-	-	-	7,6	-	-
ρ -Cimeno	1023	-	-	-	-	-	-	3,7	-	-
1,8-cineol	1032	43,7	79,5	-	41,0	7,2	-	-	14,2	80,2
γ -Terpineno	1060	0,3	0,3	-	0,8	-	-	18,9	-	-
α -terpinoleno	1089	-	-	-	0,3	-	-	3,0	-	-
Linalol	1097	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-
Neo-isopulegol	1144	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-
Citronelal	1154	-	-	-	7,0	-	-	-	-	-
Terpinen-4-ol	1176	1,0	-	-	2,0	-	24,2	53,7	2,4	1,9
α -terpineol	1189	22,6	8,0	-	7,0	2,2	2,2	3,7	15	10,0
Citronelol	1234	-	-	-	13,0	-	-	-	-	-
Neral	1240	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-
Geraniol	1254	-	-	-	1,3	-	-	-	-	-
Geranial	1270	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-
Acetato de α -terpinila	1349	-	-	-	3,5	-	-	-	-	-
Acetato de citronelila	1353	-	-	-	1,5	-	-	-	1,8	-
Acetato de Geranila	1382	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
Tetradecano	1399	-	-	-	-	-	5,3	-	1,3	-

Tabela 1.1 - (Continuação) – Teores (%) dos componentes identificados dos óleos essenciais das sete espécies de *Melaleuca* determinados por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. **IK** = índice de Retenção calculado; **MCJ** = *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*; **MER** = *M. ericifolia*; **MLD** = *M. leucadendra*; **MPT** = *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*; **MQQ** = *M. quinquenervia*; **MAL** = *M. alternifolia*; **MAR** = *M. armillaris*.

CONSTITUINTE	IR	MCJ	MER	MLD	MPT	MQQ	MAL*		MAR*	
							Caule	Folha	Caule	Folha
Metileugenol	1416	-	-	96,6	-	-	-	-	-	-
<i>E</i> -cariofileno	1417	0,8	-	-	1,0	-	-	-	13,6	-
β -(<i>Z</i>)-farneseno	1438	-	-	-	-	-	10,2	-	-	-
β -(<i>E</i>)-farneseno	1457	-	-	-	-	-	3,6	-	-	-
Aromadendreno	1437	-	-	-	-	-	-	-	2,8	-
α -humuleno	1451	-	-	-	0,3	-	-	-	1,4	-
Germancerno D	1478	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-
<i>Z</i> - β -guaieni	1490	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-
Viridifloreno	1493	-	-	-	-	-	5,4	-	-	-
Isobutirato Geranila	1511	-	-	-	-	-	-	-	2,3	-
δ -cadineno	1521	-	-	-	-	-	4,4	-	1,7	-
Ledol	1564	0,6	-	-	0,3	-	2,2	-	1,7	-
Epatulenol	1575	-	-	0,3	1,3	-	2,0	-	5,0	-
Óxido de Cariofileno	1581	-	-	-	0,9	3,5	-	-	-	-
Globulol	1583	4,8	-	0,3	-	-	14,2	2,0	17,6	-
Viridiflorol	1589	13,3	-	0,2	0,8	71,0	7,5	1,6	10,8	-
Epi- α -cadinol	1640	0,9	-	0,8	-	-	-	-	7,0	-
α -muurolol	1651	-	-	0,3	1,1	-	-	-	-	-
TOTAL		91,8	93,7	98,5	94,2	87,9	81,2	94,2	98,6	99,1

* Para estas espécies foram analisados caule e folha separados.

Tabela 1.2 – Comparação dos padrões do óleo essencial de *M. alternifolia*

Constituinte	Composição (%)		
	Padrões ISO 4730	<i>M. alternifolia</i> Viçosa ^a	<i>M. alternifolia</i> Viçosa ^b
α -pineno	1-6	t	-
Sabineno	t-3,5	t	-
α -terpineno	5-13	7,44	-
Limoneno	0,5-1,5	t	-
ρ -Cimeno	05-8	4	3,22
1,8-cineol (eucalyptol)	t-15	t	3,54
γ -terpineno	10-28	18,66	20,80
Terpinoleno	1,5-5	3	-
Terpinen-4-ol	30-48	51,22	39,37
α -terpineol	1,5-8	3,63	10,25
Aromadendreno	t-3	t	-
Ledeno (sin. Viridifloreno)	t-3	t	-
δ -cadineno	t-3	t	-
Globulol	t-1	2,03	-
Viridiflorol	t-1	1,57	-

a – presente estudo.

b – Silva et al., 2002.

Os resultados encontrados no presente trabalho revelam que *M. quinquenervia* corresponde ao quimiótipo com maiores concentrações de viridiflorol (71,0%) seguido por 1,8-cineol (7,2%) (Tabela 1.1). Ramanoelina et al. (1993) apontaram à existência de quatro quimiótipos de *M. quinquenervia* ocorrentes em Madagascar: quimiótipo contendo altas concentrações de 1,8-cineol (37,0%); quimiótipo relativamente rico em 1,8-cineol (23,0%), viridiflorol (20,0%), e terpinoleno (5,0%); outro rico em viridiflorol (48,0%) e o quarto rico em *E*-nerolidol (87,0%). Ireland et al. (2002) descreve dois quimiótipos de *M. quinquenervia* na Austrália e Nova Guiné: quimiótipo I contendo o sesquiterpeno *E*-nerolidol como componente majoritário estando ou não associado à presença de linalol, constituintes de interesse da indústria de perfumaria; e quimiótipo II contendo 1,8-cineol ou viridiflorol em maiores proporções além de α -terpineol e β -cariofileno. Já Trilles et al. (2006) descrevem 3 quimiótipos em populações desta espécie ocorrentes na Nova Caledônia: quimiótipo rico em 1,8-cineol (até 80,0%), quimiótipo rico em derivados de terpineno e quimiótipo rico em α -pineno e viridiflorol. Dray et al. (2004) observaram

aumento da mortalidade e diminuição no ganho de biomassa em larvas de *Oxyops vitiosa* alimentadas com folhas do quimiótipo rico em viridiflorol, em relação às larvas alimentadas com folhas dos outros quimiótipos.

Para *M. leucadendra* são descritos quatro quimiótipos: um com 1,8-cineol (64.3%) como o principal componente (Aboutabl et al., 1991); dois quimiótipos caracterizados por altos teores dos fenilpropanóides metileugenol e (*E*)-metiliso Eugenol (até 99% e 88% respectivamente) (Brophy e Lassak, 1988); e outro com quantidades significantes de viridiflorol (28.2%) e 1,8-cineol (21.3%) (Pino et al., 2002). Os dados obtidos no presente estudo revelam altas concentrações de metil eugenol (96,6%) nas espécies cultivadas em Viçosa. Por apresentar elevada concentração deste composto em seu óleo, quando comparada a outras espécies como *Ocimum selloi* (65,5%) (Martins et al., 1996), *Ocimum gratissimum* (46,8%) (Vostrowsky, 1990) e *Thapsia maxima* (59,6%) (Avato, 1991), *M. leucadendra* é uma promissora fonte de metil eugenol. Esse composto apresenta leve odor de eugenol sendo utilizado em larga escala na composição de perfumes e como aromatizante de alimentos (Guenther, 1972). Dentre as propriedades biológicas do metil eugenol, destaca-se sua capacidade de atração dos machos da mosca da fruta do gênero *Bractocera* (Diptera: Tephritidae) podendo, portanto ser utilizado como isca para captura de espécimes (Shelly, 2001).

M. ericifolia apresentou 1,8-cineol (79,5%) como componente majoritário. Dois quimiótipos desta espécie são conhecidos. Análises das variações químicas dos óleos essenciais desta espécie ocorrentes na Austrália identificaram populações com elevado teor de 1,8-cineol e populações contendo linalol como principal componente (Brophy e Doran, 2004). Farag et al (2004) analisando o óleo essencial desta espécie cultivada no Egito encontrou como principal componente metil eugenol (96,8%), indicando que novos quimiótipos podem ocorrer. O presente estudo revelou a presença do quimiótipo portador de 1,8-cineol como componente majoritário do óleo essencial.

Três quimiótipos de *M. cajuputi*, subespécie *cajuputi* foram reportados em estudos realizados no Japão com amostras de folhas e óleos essenciais comerciais, adquiridas da Indonésia (quatro amostras) e Japão (duas amostras). Os resultados indicaram a ocorrência de quimiótipos com altas (50,0-70,0%), baixas (31,0%) ou nenhuma concentração de 1,8-cineol (Sakasegawa et al., 2003). A subespécie *cajuputi* cultivada em Viçosa pode ser identificada como quimiótipo de concentrações relativamente altas de 1,8-cineol (43,7%). O estudo comparativo de *M. cajuputi*, subespécie *cajuputi* e subespécie *platyphylla*, referente à composição química do óleo essencial foi realizado. O monoterpeno 1,8-cineol

é o componente majoritário, seguido do monoterpene oxigenado α -terpineol (22,6%) na subespécie *cajuputi* e citronelol (15,2%) na subespécie *platyphylla*. A subespécie *cajuputi* apresentou ainda, α -pineno (2,8%) e viridiflorol (13,3%) (Tabela 1.1). Análises dos padrões dos óleos essenciais produzidos por plantas são utilizadas como ferramenta para estudos de biosistemática e quimiotaxonomia. Panos et al. (2005) estudaram a constituição química do óleo essencial de cinco espécies de *Hypericum* (Clusiaceae) nativas da Grécia, propondo uma reconstrução filogenética que confirma as divisões taxonômicas existentes para este gênero. Gauvin et al. (2005) realizaram estudo utilizando cinco espécies do gênero *Psidia* (Asteraceae) nativas do Reino Unido e de taxonomia bastante complexa, baseada, sobretudo em caracteres morfológicos, fornecendo importantes informações sobre a composição do óleo essencial, que podem ser utilizadas como ferramenta quimiotaxonômica para a caracterização de algumas espécies de *Psidia*. Os dados apresentados no presente estudo, somados a novos estudos com espécimes de diversas localidades poderão ser utilizados como ferramentas taxonômicas, podendo contribuir para confirmação do grau de parentesco entre estas subespécies.

4 – CONCLUSÃO

O presente estudo confirmou que as espécies *M. armillaris*, *M. ericifolia*, *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, e *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* cultivadas em Viçosa-Brasil constituem-se quimiótipos ricos em 1,8-cineol, o que sugere que tais espécies podem ser utilizadas como fonte alternativa deste composto, que apresenta desde uso medicinal (broncodilatador, expectorante, anti-séptico) a uso na indústria de produtos de limpeza. *M. alternifolia* apresentou altas concentrações de terpinen-4-ol e baixas concentrações de 1,8 cineol revelando-se fonte promissora de óleo essencial para uso na indústria de cosméticos em geral. *M. leucadendra* possui metil eugenol como maior componente do óleo essencial, composto largamente utilizado como aromatizante na indústria alimentícia. *M. quinquenervia* apresentou como componente majoritário viridiflorol, compostos associado à plantas de baixa palatabilidade a herbívoros.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aboutabl EA, Tohamy SFEL, De Pooter HL, De Buyck LF. 1991. A comparative study of the essential oils from three *Melaleuca* species growing in Egypt. *Flavour and Fragrance Journal* **6**(2): 139-141.

Adams RP. 1995. *Identification of Essential oil Components by Gas chromatography/Mass Spectroscopy*. Illinois: Allured Publishing Corporation. Carol Stream.

Albornoz A. 1992. *Medicina Tradicional Herbaria*. Instituto Farmacoterápico Latino. División de Fitoterapia y Productos Naturales. Caracas.

American Society of Agricultural Engineers, 2000; ASAE S358.2 DEC99, *Standards Engineering Practices Data, Moisture Measurement – Forages*.

Avato P, Jacobsen N, Smitt UW. 1991. Constituents of *Thapsia máxima* Miller. Constituents of the essential oil of the fruits. *Journal of Essential Oil Research* **4**: 467-473.

Brophy JJ, Davies NW, Southwell IA, Stiff IA, Williams LR. 1989. Gas Chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree). *Journal Agriculture Food Chemistry*. **37**: 1330-1335.

Brophy JJ, Doran JC. 1996 *Essential oils of tropical Asteromyrtus, Callistemon and Melaleuca species*. Australian. Canberra: Centre for International Agricultural Research.

Brophy JJ, Doran JC. 2004. Geographic Variation in Oil Characteristics in *Melaleuca ericifolia*. *Journal of Essential Oil Research* **16**: 4-8.

Brophy JJ, Lassak EV. 1988. *Flavour and Fragrance Journal* **3**: 43-46.

Buchanan BB, Gruissen W, Jones R L. 2000. *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologists.

Budhiraja SS, Cullum ME, Sioutis SS, Evangelista I, Habanova ST. 1999. Biological activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil component, terpinen-4-ol, in human myelocytic cell line HL-60. *Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics* **22**: 447-453.

Butcher PA, Doran JC, Slee MU. 1994. Intraspecific variation in leaf oils of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Biochemical and Systematic Ecology* **22**: 419-430.

Caboi F, Murgia S, Monduzzi M, Lazzari P. 2002. NMR investigation on *Melaleuca alternifolia* essential oil dispersed in the Monoolein aqueous system: phase behavior and dynamics. *Langmuir* **18**: 7916-7922.

Caldefie-Chezet F, Fusillier C, Jarde T, Laroye H, Damez M, Vasson MP, Guillot J. 2006. Potential anti-inflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. *Phytotherapy Research* **20**: 364-370.

Carson CF, Hammer KA, Riley TV. 2006. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews* **19**: 50-62.

Carson CF, Riley TV, Cookson BD. 1998. Efficacy and safety of tea tree oil as a topical antimicrobial agent. *Journal of Hospital Infection* **40**: 175-178.

Chalchat JC, Muhayimana A, Habimana JB, Chabard JL. 1997. Aromatic plants of Rwanda. II. Chemical composition of essential oils of ten Eucalyptus species growing in Ruhunde Arboretum, Butare, Rwanda. *Journal of Essential Oil Research* **9**: 159-165.

Davies NW. 1990. Gas Chromatographic Retention Indices of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl Silicone and Carbowax 20m Phases. *Journal of Chromatography* **503**: 01-24.

Degousee N, Triantaphylides C, Montillet JL. 1994. Involvement of oxidative processes in the signaling mechanisms leading to the activation of glyceollin synthesis in soybean (*Glycine max*). *Plant Physiology* **104**: 945-52.

Dray FA, Bennett BC, Center TD, Wheeler GS, Madeira, PT. 2004. Genetic variation in *Melaleuca quinquenervia* affects the biocontrol agent *Oxyops vitiosa*. *Weed Technology* **18**: 1400-1402.

Farag, RS Shalaby AS, El-Baroty GA, Ibrahim NA, Ali MA, Hassan EM. 2004. Chemical and biological evaluation of the essential oils of different *Melaleuca* species. *Phytotherapy Research* **18**: 30-35.

Ferrarese L, Uccello A, Zani F, Ghirardini A. 2006. Properties of *Melaleuca alternifolia* Cheel: antimicrobial activity and phytocosmetic application. *Cosmetic News* **29**: 16-20.

Gauvin A, Smadja J. 2005. Essential oil composition of four *Psiadia* species from Reunion Island: A chemotaxonomic study. *Biochemical Systematics and Ecology* **33**: 705-714.

Girard B. 1996. Retention Index Calculation using Kováts constant model for Linear Temperature-programmed Gas Chromatography. *Journal of Chromatography A* **721**: 279-288.

Giordani C, Molinari A, Toccaceli L, Calcabrini A, Stringaro A, Chistolini P, Arancia G, Diociaiuti M. 2006. Interaction of tea tree oil with model and cellular membranes. *Journal of Medical Chemistry* **49**: 4581-4588.

Guenther E. 1972. *The essential oils*. New York: Krieger.

Hu X, Neill SJ, Cai W, Tang Z. 2003. Hydrogen peroxide and jasmonic acid mediate oligogalacturonic acid-induced saponin synthesis in suspension-cultured cells of *Panax ginseng*. *Physiology Plant* **118**: 414-21.

Iori A, Grazioli D, Gentile E, Marano G, Salvatore G. 2005. Acaricidal properties of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree oil) against nymphs of *Ixodes ricinus*. *Veterinary Parasitology* **129**: 173-176.

Ireland BF, Hibbert DB, Goldsack RJ, Doran JC, Brophy JJ. 2002. Chemical variation in the leaf essential oil of *Melaleuca quinquenervia* (Cav). S.T. Blake. *Biochemical Systematics and Ecology* **30**: 457-470.

ISO International Standard Organization, 1996. *Essential Oils – Oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (tea tree oil)*. ISO-437. International Standard Organization, Geneva.

ISO International Organization for Standardization. ISO/FDIS 4730. 2004. *Final draft, International Standard Oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil)*

Jabs T, Tschfpe M, Colling C, Hahlbrock K, Scheel D. 1997. Elicitor-stimulated ion fluxes and O₂ from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin synthesis in parsley. *The Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **94**: 4800-4805.

Johns MR, Johns JE, Rudolph V. 1992. Steam distillation of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **58**: 49-53.

Kitanov GM, Van DT, Assenov I. 1992. Flavonols from *Melaleuca leucadendron* leaves. *Fitoterapia* **68**: 379-380.

Kravchuk ZhM, Perkova'ska Hlu, Dmytriiev OP. 2003. Role of active forms of oxygen in the induction of phytoalexin synthesis in *Allium cepa* cells. *Tsitol Genetics* **37**: 30-35.

Leach DN, Wyllie SG, Hall JG, Kyrtzsis I. 1993. Enantiomeric composition of the principal components of the oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal Agriculture and Food Chemistry* **41**: 627-632.

Mehdy MC. 1994 Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiology* **105**: 467-472.

Martins ER, Casali WD, Barbosa LC, Carazza F. 1997. Essential Oil in the Taxonomy of *Ocimum selloi* Benth. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **8**: 29-32.

Matsuda F, Miyagawa H, Ueno T. 2001. Involvement of reactive oxygen species in the induction of (S)-N-pcoumaroyloctopamine accumulation by h-1,3-glucooligosaccharide elicitors in potato tuber tissues. *Journal of the Bioscience* **56**: 228-234.

- Morton JF. 1981.** *Atlas of Medicinal Plants of Middle America*. Charles C. Thomas. Springfield, IL.
- Panos VP, Couladis M, Roussis VA. 2005.** Method for Detecting the Biosystematic Significance of the Essential Oil composition: The case of five Hellenic *Hypericum L.* Species. *Biochemical Systematics and Ecology* **33**: 873-898.
- Paschen R, Wells D, Blair M, Sirvent TM. 2006.** Optimization of tissue culture conditions of *Melaleuca alternifolia* for enhanced oil production. *Abstracts of Papers, 231st ACS National Meeting, Atlanta, GA, United States, March 26-30*.
- Penfold AR, Morrison FR, McKern HHG. 1948.** Studies in the physiological forms of the Myrtaceae. Part II: The occurrence of physiological forms in *Melaleuca alternifolia* Cheel. In: *Researches on Essential Oils of the Australian Flora*. Vol. I, Part II. Sydney: Museum of Technology and Applied Science, 18-19.
- Perrone ST, McDonald KL, Sutherland MW, Guest DI. 2003.** Superoxide release is necessary for phytoalexin accumulation in *Nicotiana tabacum* cells during the expression of cultivar-race and non-host resistance towards *Phytophthora* spp. *Physiology and Molecular Plant Pathology* **62**: 127-135.
- Pino J, Bello A, Urquiola A, Agüero J, Marbot R. 2002.** *Journal of Essential Oil Research* **14**: 10-11.
- Prates HT, Leite RC, Craveiro AA. et al. 1998.** Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). *Journal of the Brazilian Chemical Society* **9**: 193-197.
- Ramanoelina PAR, Viano J, Bianchini, JP, Gaydou EM. 1994.** Occurrence of Various Chemotypes in Niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) Essential Oils from Madagascar Using Multivariate Statistical Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **42**: 1177-1182.
- Riedl RW. 1997.** Practical methods for using tea tree oil. *Agro Food Industry Hi-Tech* **8**: 34-36.
- Russell, MF, Southwell IA. 2002.** Monoterpenoid accumulation in *Melaleuca alternifolia* seedlings. *Phytochemistry* **59**: 709-716.
- Russell MF, Southwell IA. 2003.** Monoterpenoid accumulation in 1,8-cineole, terpinolene and terpinen-4-ol chemotypes of *Melaleuca alternifolia* seedlings. *Phytochemistry* **62**: 683-689.
- Sakasegawa M, Hori K, Yatagai M. 2003.** Composition and antitermite activities of essential oils from *Melaleuca* species. *Journal of Wood Science* **49**: 181-187.

- Shelly TE. 2001.** Feeding on methyl eugenol and *Fagraea berteriana* Flowers Increases long-range female attraction by males of the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* **84**: 634-640.
- Shelton D, Zabarás D, Chohan S, Wyllie, SG, Baverstock P, Leach D, Henry R. 2004.** Isolation and Partial Characterization of a Putative Monoterpene Synthase from *Melaleuca alternifolia* (Cheel). *Plant Physiology e Biochemistry* **42**: 875-882.
- Silva SRS, Demuner AJ, Barbosa LCA, Casali VWD, Nascimento EA, Pinheiro AL. 2002.** Effect of the water stress on the growth and the essential oil production of the *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Acta Scientiarum* **24**: 1363-1368.
- Silva SRS, Demuner AJ, Barbosa LC, Andrade NJ, Nascimento EA, Pinheiro AL. 2003.** Análise dos Constituintes Químicos e da atividade antimicrobiana de *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **6**: 63-70
- Simões CMO, Spitzer V. 2000.** *Farmacognosia*. Ed. UFRGS: Porto Alegre. RS. Brasil.
- Simões CMO, Spitzer V. 1999.** Óleos essenciais. In: Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Florianópolis: Editora da UFSC. 397-425.
- Southwell IA, Russell MF. 2002.** Volatile oil comparison of cotyledon leaves of chemotypes of *Melaleuca alternifolia*. *Phytochemistry* **59**: 391-393.
- Tang M, Smith CJ. 2001.** Elicitor induced defense responses in *Medicago sativa*. *New Phytol* **149**: 401-408.
- Tong MM, Altman PM, Barnetson RS. 1992.** Tea tree oil in the treatment of *Tinea pedis*. *Australasian Journal of Dermatology* **33**: 145-149.
- Trilles BL, Bombarda I, Bouraima-Madjebi S, Raharivelomanana P, Bianchini,, JP, Gaydou EM. 2006.** Occurrence of various chemotypes in naiouli [*Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S. T. Blake] essential oil from New Caledonia. *Flavour and Fragrance Journal* **21**: 677-682.
- Vostrowsky O, Garbe W, Bestmann HJ, Maia JGS. 1990.** Essential oil of alfavaca, *Ocimum gratissimum*, from Brazilian Amazon. *Zeitschrift fur Naturforsch* **45**: 1073-1076.
- Wheeler GS, Massey LM, Southwell IA. 2003.** Dietary influences on terpenoids sequestered by the biological control agent *Oxyops vitiosa*: effect of plant volatiles from different *Melaleuca quinquenervia* chemotypes and laboratory host species. *Journal of Chemical Ecology* **29**: 188–207.
- Yoshida T, Maruyama T, Okuda ANT. 1996.** An hydrolysable tannin and accompanying polyphenols from *Melaleuca leucadendron*. *Phytochemistry* **42**:171-1173.

Zhao J, Davis LC, Verpoorte R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances* **23**: 283-333.

Zhao J, Hu Q, Guo YQ, Zhu WH. 2001. Elicitor-induced indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* cell cultures is related to Ca²⁺-influx and the oxidative burst. *Plant Science* **161**: 423-431.

Zhao J, Sakai K. 2003. Multiple signaling pathways mediate fungal elicitor induced h-thujaplicin accumulation in *Cupressus lusitanica* cell cultures. *Journal of Experimental Botany* **54**: 647-656.

CAPÍTULO 2:

MORFOANATOMIA FOLIAR DE SETE ESPÉCIES DE *Melaleuca* L. (MYRTACEAE) CULTIVADAS NO BRASIL

RESUMO: São apresentados dados relativos à morfoanatomia foliar de sete espécies de *Melaleuca* L. cultivadas no município de Viçosa, estado de Minas Gerais – Brasil. A avaliação morfológica e anatômica das espécies revelou a presença de elementos já descritos para família Myrtaceae. A análise do padrão de distribuição das glândulas em *M. alternifolia* Cheel e *M. armillaris* Sm. pode ser potencialmente utilizada para identificação destas espécies quando outras partes diagnósticas da planta não estão presentes. A ocorrência de estômatos anomocíticos e a semelhança anatômica dos pecíolos podem ser considerados caracteres unificadores para o gênero. A presença e o tipo das células de cobertura das cavidades secretoras podem ser utilizados como ferramenta taxonômica. Caracteres xeromórficos foram identificados em todas as espécies bem como a presença de estruturas semelhantes a lenticelas nas folhas das espécies pecioladas. Entretanto, estudos adicionais são necessários para se estabelecer a correlação de tais características a fatores genéticos e/ou ambientais.

ABSTRACT: This work presents data on leaf morphoanatomy of seven *Melaleuca* L. species cultivated in Viçosa, Minas Gerais - Brazil. The morphological and anatomical evaluation of the species confirmed the presence of elements already described in the Myrtaceae family. The analysis of gland distribution pattern in *M. alternifolia* Cheel *M. armillaris* Sm. can potentially be used to identify these species when other diagnostic plant parts are not present. The occurrence of anomocytic stomata and the anatomical similarity of the petioles can be considered unifying characters for the genus. The presence and the type of cells covering the secretory cavities can be used as taxonomic tool. Xeromorphic characters were identified in all the species as well as the presence of structures similar to lenticels in leaves of petioled species. However, further studies are necessary to establish the correlation of such characteristics with genetic and/or environmental factors.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Melaleuca* L. pertencente à subfamília Leptospermoideae, ocorre predominantemente na Austrália e Polinésia e reúne espécies com fruto seco (geralmente cápsulas loculicidas) e folhas alternas e compreende aproximadamente de 150 a 230 espécies descritas em todo o mundo (Boland et al., 1984; Cronquist, 1981; Harwod, 1999). Várias espécies deste gênero ocorrem naturalmente em regiões pouco drenadas ou sazonalmente alagadas ou solos ácidos na Austrália e Papua-Nova Guiné. Têm sido utilizadas para reflorestamento no Vietnã, em áreas inadequadas para agricultura, como locais de alagamento sazonal e de solos ácidos e com alta incidência de queimadas na estação seca, características que conferem a várias espécies deste gênero o *status* de plantas daninhas invasoras (Doram e Gum, 1994). As folhas, flores e frutos são frequentemente muito distintivas do gênero *Melaleuca* (Boland et al., 1984).

As folhas e caule de várias espécies de *Melaleuca* produzem óleo essencial de uso medicinal, sendo muito exploradas comercialmente, sendo a Austrália um dos maiores produtores de óleo essencial de espécies deste gênero, sobretudo de *M. alternifolia* o que eleva o preço deste produto. As indústrias de cosméticos e produtos naturais no Brasil adquirem tal produto através de importação, e é então utilizado na formulação de cosméticos, produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (Castro et al., 2005).

No Brasil é crescente o interesse de várias indústrias na implantação de cultivos comerciais de *M. alternifolia*. Os estudos de Castro et al. (2005) sobre a análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de *M. alternifolia* indicam a total viabilidade de implantação do cultivo desta espécie para fins comerciais. A análise do óleo essencial desta e de outras seis espécies de *Melaleuca* realizados (Capítulo 1 deste trabalho) indicou padrão diferenciado na composição química dos óleos essenciais, revelando o potencial de utilização destas espécies para extração e comercialização de óleos essenciais de interesse industrial. Este padrão distinto na composição química dos óleos essenciais pode indicar também a presença de estruturas secretoras diferenciadas em cada espécie. Apesar do elevado potencial de produção de óleos essenciais das espécies do gênero *Melaleuca*, poucos são os estudos anatômicos relativos a este gênero que apresenta alguns caracteres anatômicos descritos como a presença de idioblastos cristalíferos e presença de papilas na epiderme da face abaxial (Solereeder, 1908). O

estudo de tais características pode contribuir para o controle de qualidade da extração dos óleos, auxiliando na identificação correta da espécie, especialmente sob a forma de fragmentos de folhas. Considerando-se a carência de dados sobre anatomia foliar e caracterização de estruturas secretoras deste gênero o presente trabalho tem por objetivo obter maior conhecimento destas espécies, fornecendo dados estruturais como subsídio para estudos farmacológicos, ecofisiológicos e taxonômicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e Identificação das Plantas

M. alternifolia Cheel, *M. armillaris* Sm., *M. ericifolia* Sm., *M. cajuputi* Roxb. subespécie *cajuputi* Powell, *M. cajuputi* Roxb subespécie *platyhylla* Barlow, *M. quinquenervia* (Cav.) S.T.Blake e *M. leucadendra* (L.)L. foram coletadas em diferentes localidades (Quadro 1.2). As plantações de *Melaleuca* foram estabelecidas a partir de sementes originadas do CSIRO - Division of Forestry and Forest Products – Canberra – ACT. O material foi identificado, herborizado e incorporados ao acervo do Herbário VIC (registradas sob os números 30839 a 30845) do Departamento de Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Quadro 1.2-Locais de coleta dos espécimes de *Melaleuca* utilizados no estudo de morfoanatomia foliar.

Localidade	Espécime	Altitude	Latitude	Longitude
Setor de Dendrologia do Departamento de Engenharia Florestal da UFV	1,6,7.	697m	20° 46' 24.4'' S	42° 52' 28.9'' W
Sítio Refúgio, Município de São Geraldo, distrito de Monte Celeste – MG	1,2,3,4,5,6 ,7.	762m	20° 52' 49.6'' S	42° 51' 42.1'' W
Sítio Boa Vista, Município de Coimbra - MG	3.	708m	20° 49' 00.9'' S	42° 49' 07.3'' W

1. *M. alternifolia*; 2. *M. armillaris*; 3. *M. ericifolia*; 4. *M. cajuputi*, subespécie *cajuputi*; 5. *M. cajuputi*, subespécie *platyhylla*; 6. *M. quinquenervia*; 7. *M. leucadendra*.

Caracterização Anatômica

Foram utilizadas folhas adultas coletadas em dois indivíduos de cada espécie. Folhas completamente expandidas provenientes do 4º nó foram coletadas em pontos

aleatórios das árvores e foram fixadas em FAA₅₀ (formaldeído, ácido acético e etanol 50%, 1:1:18 v/v), por 48 horas, e armazenadas em etanol 70% (Johansen, 1940). Seções transversais e longitudinais do pecíolo (região basal, mediana e distal) e da lâmina foliar (região mediana) foram obtidas com o uso de micrótomo de mesa; os cortes foram corados com azul-de-astra e fucsina básica (Kraus e Arduin, 1997) e as lâminas foram montadas em bálsamo-do-Canadá sintético. Fragmentos da lâmina foliar foram diafanizados, utilizando-se solução de ácido clorídrico e peróxido de hidrogênio, 1:1, hidróxido de sódio 10% e cloral hidratado 25%, intercalados por sucessivas lavagens em água destilada e corados com safranina e azul-de-astra (Kraus e Arduin, 1997).

A classificação dos estômatos foi feita de acordo com Wilkinson (1979), a do sistema vascular de acordo com o esquema proposto por Howard (1979) e a descrição morfológica seguiu as recomendações de Radford et al. (1974).

A análise e a documentação fotográfica foram feitas utilizando-se um microscópio de luz (Olympus AX 70), conectado a um sistema de fotomicrografia (U-Photo), do Laboratório de Anatomia Vegetal, do Departamento de Biologia Vegetal da UFV.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Descrição Morfológica

Poucos trabalhos referentes às características morfológicas distintivas entre as espécies foram encontrados. As espécies de *Melaleuca* estudadas apresentam folhas alternas com margem inteira, nervação paralelodroma (Figura 1). Estas características foram referidas por Boland et al., (1984) para o gênero. As folhas de *M. alternifolia*, *M. armillaris* e *M. ericifolia* são sésseis, lineares com ápice e base agudos. Podem ser diferenciadas pelo tamanho e disposição das glândulas. Estas características são úteis na identificação de material estéril, podendo ser observadas mesmo em material herborizado (Figura 2). As demais espécies são pecioladas e possuem folhas coriáceas. *M. leucadendra* apresenta folhas adultas mais ou menos lanceoladas, com cinco nervuras longitudinais; *M. quinquenervia* possui folhas lanceoladas a oblanceoladas, duras, com cinco nervuras longitudinais (raramente 3 ou 6), com outras nervuras menos

distintas e glândulas pouco visíveis. *M. cajuputi* subespécie *cajuputi* apresenta folhas adultas retas ou ligeiramente curvas, com tricomas tectores e 3-5 nervuras. As folhas de *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* são semelhantes às de *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, porém apresentam pecíolo curto. Boland et al., (1984) observaram esta característica também em *M. dealbata*, *M. leucadendra* e *M. preissiana*.

3.2. Descrição anatômica

3.2.2 – Pecíolo

Anatomicamente o pecíolo é semelhante em todas as espécies pecioladas estudadas. São revestidos por epiderme unisseriada e no parênquima cortical é comum a ocorrência de cavidades secretoras e idioblastos cristalíferos contendo drusas. O sistema vascular é constituído por um conjunto de aproximadamente sete feixes vasculares bicolaterais que são menos calibrosos nas extremidades. Os feixes são parcialmente circundados por fibras densas que formam uma calota na face adaxial (Figura 3, A-G). Solereder (1908) indicou a presença de bainha perivascular no pecíolo das Myrtaceae que segundo Howard (1979), é formada por fibras e apresenta espessura variável, de acordo com a espécie considerada. A análise da estrutura anatômica do pecíolo auxilia no reconhecimento de determinados táxons, sendo que a observação de sua secção distal pode, em muitos casos, ser suficiente, para identificar a família e, em alguns casos, até o gênero de determinadas plantas (Howard, 1979). O uso do padrão de nervação foliar aliado à análise do sistema vascular no pecíolo permitiu a separação da grande maioria das espécies de *Eugenia* (Cardoso e Sajo, 2004). Khatijah et al. (1992) e Costa et al. (1995) utilizaram a natureza das células dessa bainha como caráter taxonômico, para delimitar espécies de *Eugenia*. No presente estudo dos pecíolos das quatro espécies, nenhum caráter distintivo pode ser utilizado para delimitação de espécies, porém pode vir a ser utilizado como caráter unificador para o gênero *Melaleuca*.



Figura 1. Aspectos gerais das folhas das sete espécies de *Melaleuca*. Da esquerda para direita: *M. leucadendra*; *M. quinquenervia*; *M. cajuputi*, subespécie *cajuputi*, *M. cajuputi*, subespécie *platyphylla*, *M. alternifolia*; *M. armillaris* e *M. ericifolia*.

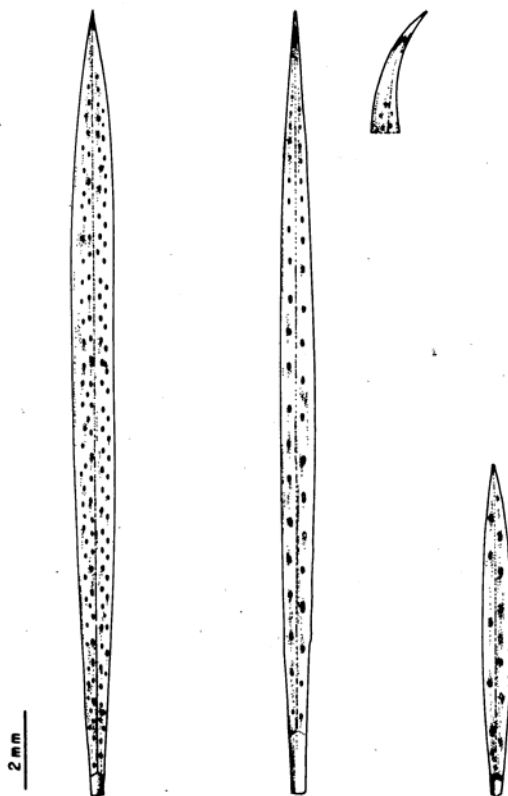


Figura 2. Esquema das folhas de *M. alternifolia*; *M. armillaris* e *M. ericifolia* (respectivamente, da esquerda para direita). Notar o padrão de distribuição das glândulas: aleatório em *M. alternifolia* e linear nas demais espécies. Notar também o ápice recurvado, característico da folha de *M. armillaris* e o tamanho reduzido da folha de *M. ericifolia* em relação às demais espécies.

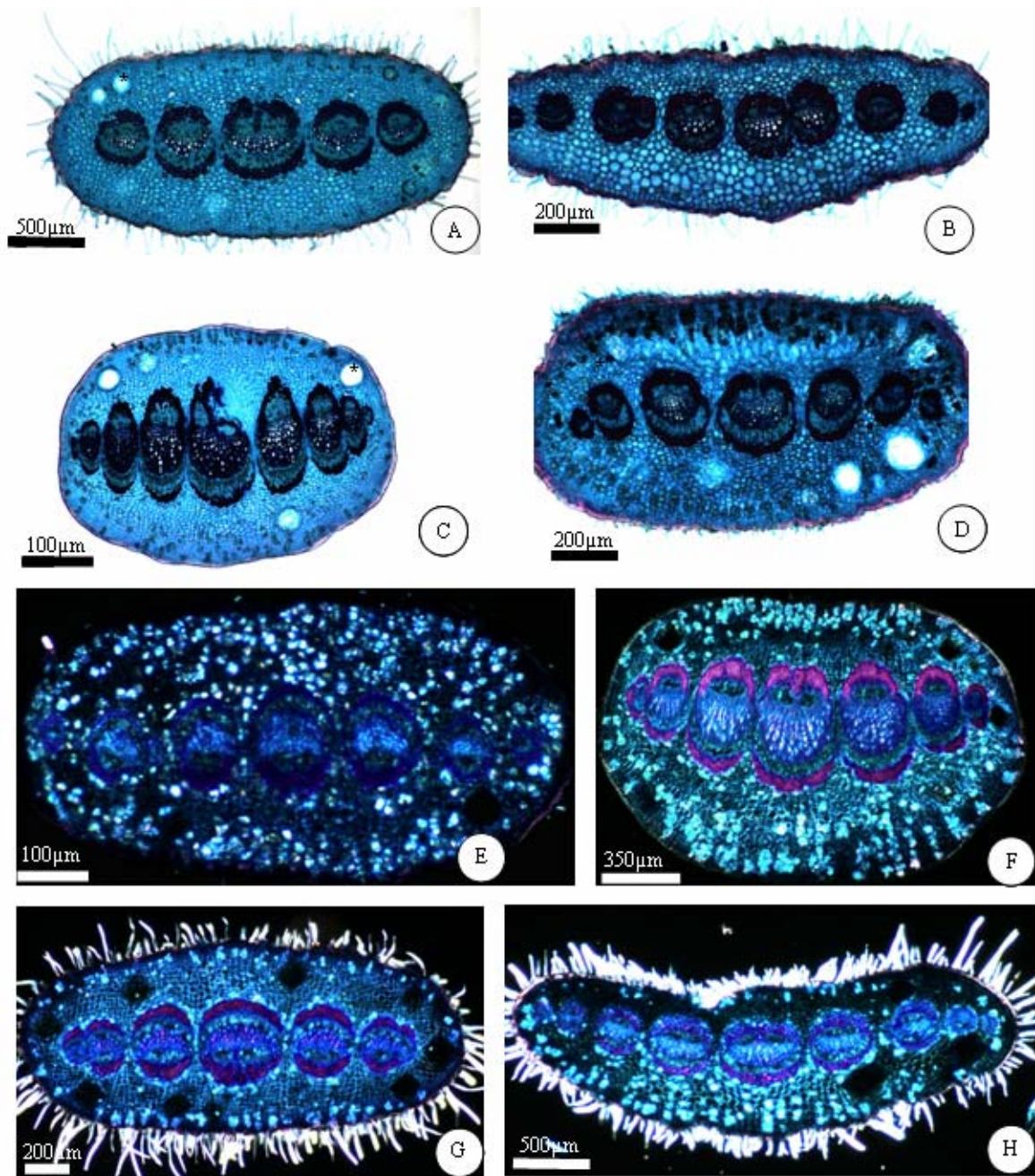


Figura 3. Secções transversais de peciolo: A: *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*; B: *M. Cajuputi* subespécie *platyphylla*; C: *M. leucadendra*; D: *M. quinquenervia*. Luz Polarizada evidenciando a presença de idioblastos cristalíferos contendo drusas: E: *M. quinquenervia*; F: *M. leucadendra*; G: *M. cajuputi*; H: *M. platyphylla*; * = Cavidades Secretoras.

3.2.2 - Lâmina foliar

As folhas são anfiestomáticas, com epiderme unisseriada de células que em secções transversais se apresentam quadrangulares ou às vezes arredondadas e em ambas as faces revestidas por cutícula espessa, papilosa em *M. alternifolia*, e lisa ou

estriada nas demais espécies. Os estômatos são anomocíticos e distribuídos regularmente em toda extensão da epiderme. Estômatos anomocíticos ou paracíticos estão presentes em ambas as faces da epiderme foliar na família Myrtaceae (Solleder, 1908; Metcalfe e Chalk, 1979), porém outros tipos estomáticos como anemostaurocítico, paracítico, ciclocíticos podem estar presentes, não sendo considerados por alguns autores como um bom caráter diagnóstico para alguns gêneros da família Myrtaceae (Fontenelle et al., 1994; Neves e Donato, 1989; Arruda e Fontenelle, 1994). No presente estudo, a presença de estômatos anomocíticos se constituiu um caráter constante podendo vir a ser considerado como caráter unificador para o gênero *Melaleuca*. Em vista frontal o contorno das células epidérmicas apresenta-se espessado e reto a ondulado em todas as espécies estudadas. Observou-se em ambas as faces da epiderme células de cobertura, que revestem as cavidades secretoras do mesófilo. Estas células se destacam pela ausência de coloração e em *M. alternifolia* e *M. leucadendra* ocorrem aos pares e têm aspecto reniforme. Já em *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* e *M. quinquenervia* ocorrem isoladamente. Em *M. ericifolia* e *M. armillaris* onde as cavidades secretoras não se localizam em posição subepidérmica, não se verifica a presença de células de cobertura das cavidades e sim regiões distintas na face abaxial da epiderme onde não ocorrem estômatos (Figura 4, A-G). Cuidado especial deve ser tomado para não se confundir tais células com cicatrizes de tricomas tectores que ocorrem em ambas as faces em *M. leucadendra*, *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* e *M. quinquenervia* (Figura 4, F).

À exceção de *M. alternifolia* nas demais espécies a crista cuticular que recobre as células-guarda é tão espessa que forma uma câmara epiestomática sobre o átrio externo do ostíolo (Figura 4, D-G). Em vista frontal a delimitação entre as células guardas e subsidiárias é dificultada pela proeminência da crista cuticular, especialmente em *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*, *M. quinquenervia* e *M. leucadendra* (Figura 4, D-G).

A presença de células de cobertura ocorrendo aos pares é um caráter distintivo em *M. leucadendra*. Esta característica também é útil para diferenciação de *M. alternifolia*, *M. armillaris* e *M. ericifolia*, não tendo a mesma eficiência como caráter distintivo entre *M. quinquenervia*, *M. cajuputi* subespécie *cajuputi* e *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* (Figura 4, A-G).

As folhas das sete espécies são isobilaterais com mesofilo de arranjo compacto, característica observada em folhas geralmente de posição vertical, sendo comum na família Myrtaceae (Metcalf e Chalk, 1979). Em *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, *M. leucadendra*, *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* e *M. quinquenervia* o parênquima paliçádico em ambas as faces encontra-se interrompido na região das nervuras de maior calibre, sendo preenchido por células de menor tamanho e de aspecto colenquimatoso (Figura 5, A-H; Figura 6, A, C, E). O parênquima lacunoso apresenta número variável de camadas celulares (4-8) dependendo da espécie. A presença de mesofilo compacto, e volume reduzido de espaços intercelulares são características xeromórficas e podem refletir condições ambientais xerofíticas (Eames e McDaniels, 1925; Fahn e Cutler, 1992). A compactação do mesofilo pode se constituir um reforço estrutural visto que nem sempre o desempenho fotossintetizante é maior nas células do parênquima paliçádico. Devido a esse reforço mecânico, quando há um menor volume de parênquima lacunoso em relação ao parênquima paliçádico, a forma das folhas é menos impactada pela desidratação (James et al., 1999). Outro fator a ser considerado é o excesso de luminosidade ao qual estão expostas as plantas em regiões tropicais. Waldhoff e Furch (2000) atribuem a presença de caracteres xeromórficos observados em plantas tropicais a este fator. A presença de maior espessura da cutícula, parênquima paliçádico mais espesso e lacunoso mais compacto a maior grau de estruturas lignificadas no mesofilo, como se observa nas espécies estudadas é apontado por Boeger e Wisniewsk (2003) como resposta ao excesso de luminosidade.

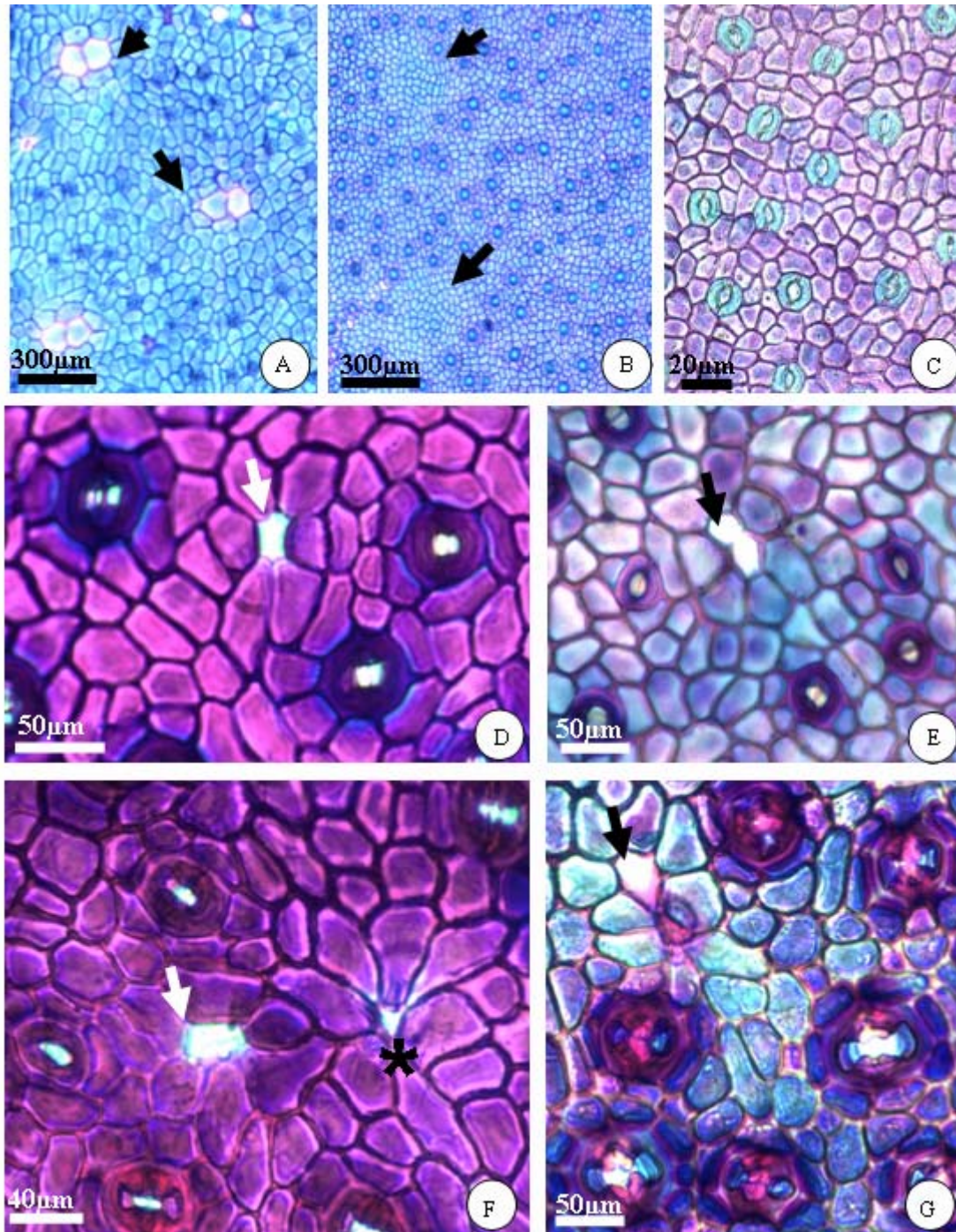


Figura 4. Dissociação epidérmica evidenciando espessamento das paredes das células epidérmicas com contorno reto a ondulado e células de cobertura da cavidade secretora (setas); A: *M. alternifolia*; B: *M. armillaris*; C: *M. ericifolia*; D: *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*; E: *M. leucadendra*; F: *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*; G: *M. quinquenervia*. * = cicatriz de tricoma

As cavidades secretoras encontram-se distribuídas na interface entre o parênquima paliçádico e lacunoso em *M. armillaris*, *M. ericifolia*, *M. quinquenervia*, *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* e *M. leucadendra*,

nestas duas últimas, ocupando maior extensão do parênquima paliçádico. Em *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*, *M. leucadendra*, *M. cajuputi* subespécie *cajuputi* e *M. quinquenervia* as cavidades secretoras fazem contato direto com a epiderme (Figura 5, B-D, F, H; Figura 6, A, C, D, E). As cavidades secretoras em Myrtaceae têm origem esquizógena (Solereeder, 1908; Fahn, 1979), porém podem ter origem esquizolisígena como observado em *M. alternifolia* (List et al., 1995). O tipo e a posição das cavidades secretoras presentes nas folhas, bem como o tipo de epitélio secretor foram utilizados por Keating (1984) para estudo das relações filogenéticas da Ordem Myrtales. Neste estudo o autor verificou que a ocorrência das cavidades nas 14 famílias desta Ordem estudadas é rara, sendo encontradas apenas nas famílias Myrtaceae e Psiloxilaceae e sendo caracterizada pela presença de epitélio secretor com uma camada de células.

Os feixes vasculares são do tipo biclateral em todas as espécies (Figura 5, A, C, E, G). Em *M. alternifolia*, *M. armillaris* e *M. ericifolia*, observou-se uma nervura mediana de maior calibre em meio a duas nervuras de menor calibre que apresentam mesma organização estrutural da nervura mediana (Figura 6, A, C, E). Nas demais espécies os feixes vasculares apresentam disposição alternada entre feixes de maior e menor calibre. Em todas as espécies os feixes são circundados parcialmente por uma bainha de fibras densas que formam calotas em ambas as faces da folha. Em *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, *M. leucadendra*, *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* e *M. quinquenervia* observou-se que o xilema se organiza radialmente sendo envolvido por floema bem desenvolvido e dividido em duas porções laterais na face adaxial. Todo feixe vascular nestas espécies é circundado por uma camada de células parenquimáticas formando uma bainha (Figura 5, A, C, E, G). A presença de feixe vascular do tipo biclateral e circundado por fibras e células parenquimáticas já foi descrita por Solereeder (1908) para a família Myrtaceae.

M. alternifolia e *M. ericifolia* apresentaram nervura mediana distinta somente em secção transversal, sendo identificado pelo traço mediano e de maior calibre (Figura 6, A, C, E). Nas demais espécies, observou-se uma tendência substituição do modelo de nervura mediana pelo arranjo alternado de nervuras de maior e menor calibre. Keating (1984) afirma que em indivíduos pertencentes à Ordem Myrtales a nervura mediana pode ser pouco definida, porém não faz referência a espécies onde se verifica ausência de nervura mediana. O mesmo autor sugere para a família Myrtaceae, a hipótese da especialização dos padrões de nervura mediana que poderia ser confirmado por uma

ampla análise de outras espécies da família. De modo geral sugere que um traço semicircular poderia ter evoluído em duas direções: 1º) redução de um traço largo a um arco estreito de tecidos condutores; 2º) o traço teria se tornado, de recurvado adaxialmente a plano. Esta segunda tendência se verifica nas espécies estudadas onde observamos traço recurvado adaxialmente em *M. ericifolia* e *M. alternifolia* e traço plano com ausência de nervura central e com um padrão de alternância de feixes de maior e menor calibre nas demais espécies (Figura 4, A-M).

A margem foliar é revoluta apresentando interrupção do parênquima paliçádico que é substituído por um conjunto de células de natureza colenquimatoso (Figura 5, D, F, H) como descrito por Metcalfe e Chalk (1975) para o gênero *Melaleuca*, porém tal característica não é universal, pois não foi observada em *M. alternifolia*, *M. armillaris* e *M. ericifolia*. As células epidérmicas desta região são levemente cônicas e alongadas anticlinalmente, apresentando cutícula mais espessa em relação à superfície foliar, característica que se acentua em *M. quinquenervia*.

À exceção de *M. ericifolia*, observou-se em luz polarizada, a presença de idioblastos cristalíferos no mesófilo das demais espécies. *M. alternifolia* apresentou idioblastos cristalíferos contendo drusas por entre as células do parênquima lacunoso e em *M. armillaris* além de drusas, foram observados monocristais (Figura 7, E, F e G). Já em *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, *M. cajuputi* subespécie *platyphylla* e *M. quinquenervia* os idioblastos contendo monocristais ocorreram preferencialmente por entre as células do parênquima paliçádico e em *M. leucadendra* observou-se idioblastos contendo drusas por entre o parênquima paliçádico e monocristais no lacunoso. Em *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*, *M. quinquenervia* e *M. leucadendra* constatou-se a presença de drusas envolvendo a bainha de fibras que circundam o feixe vascular (Figura 7, A-D). O tipo e a distribuição dos cristais podem constituir-se em caracteres diagnósticos para a taxonomia (Fahn, 1990), sendo comum sua presença na família Myrtaceae (Metcalfe e Chalk, 1975).

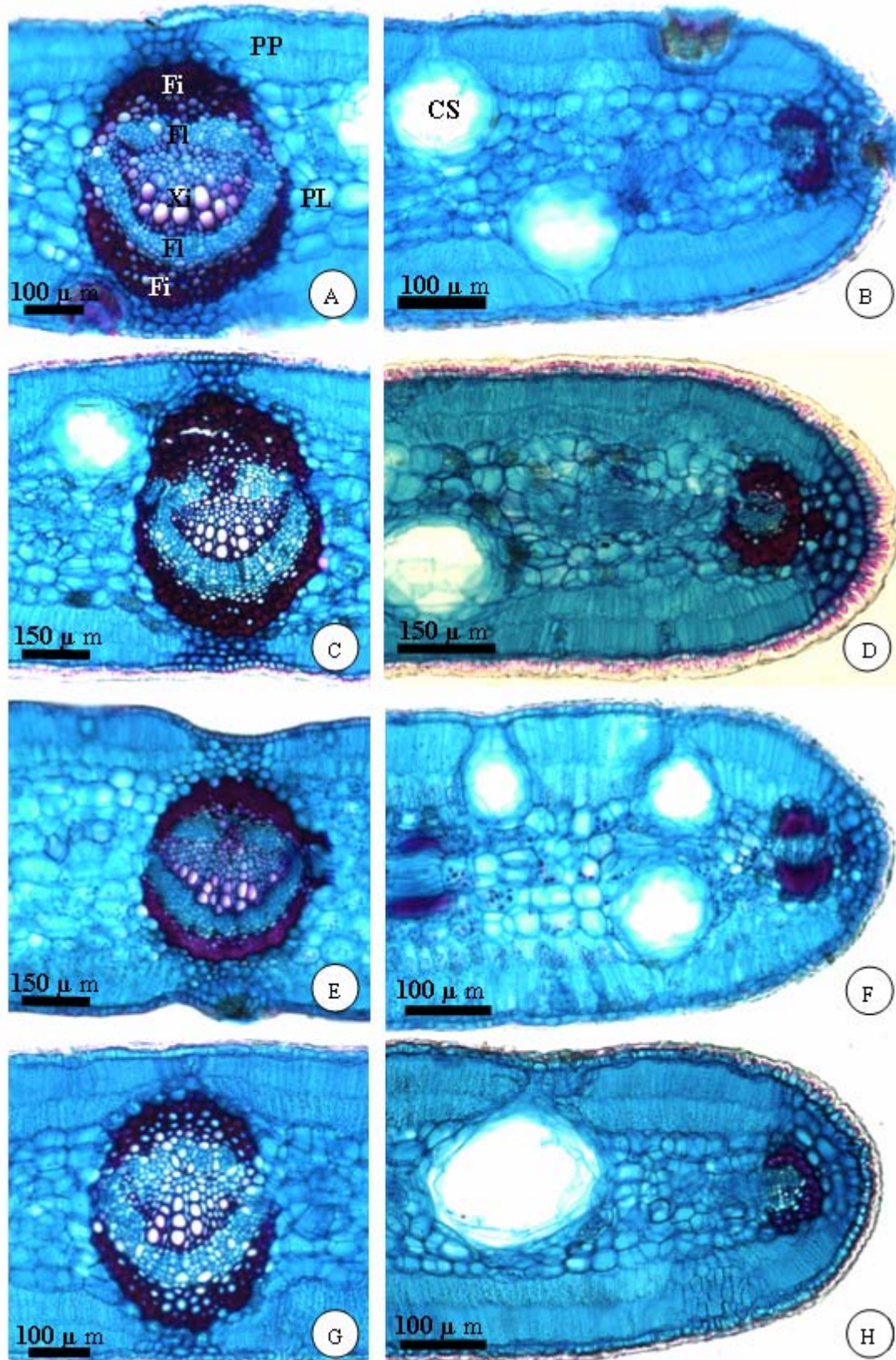


Figura 5. Cortes transversais da lâmina foliar das espécies de *Melaleuca* e. A-B: *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*; C-D: *M. quinquenervia*; E-F: *M. leucadendra*; G-H: *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*; CS = cavidade secretora; Fl = floema; Fi = fibras; Xi = xilema.

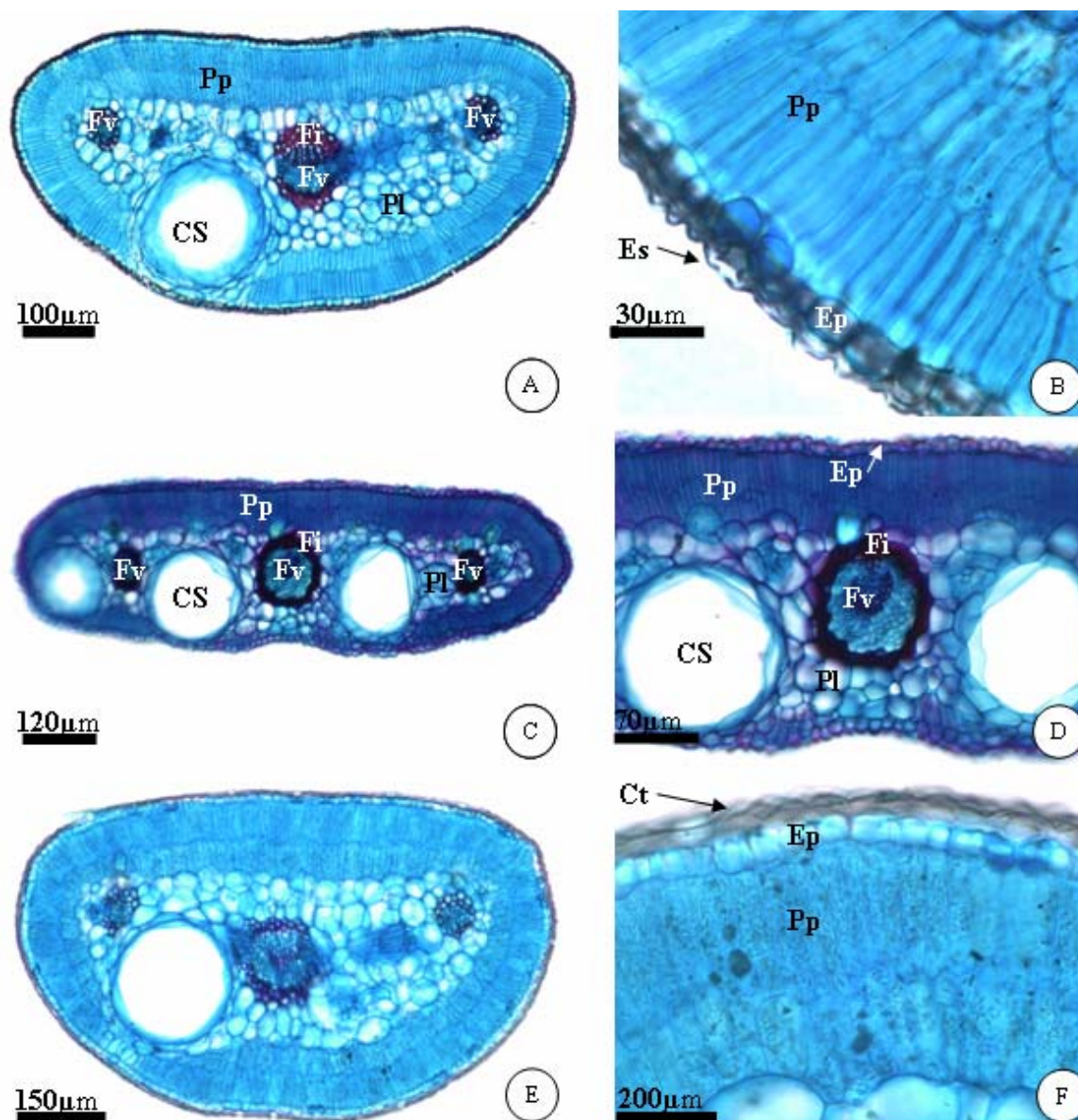


Figura 6. Folha das espécies de *Melaleuca* em secção transversal. A-B: *M. ericifolia* ; C-D: *M. alternifolia*; E-F: *M. armillaris*. CS = cavidade secretora; Ct = cutícula; Ep = epiderme; Es = estômato; Fl = floema; Fi = fibras; Fv = feixe vascular; Pl = Parênquima lacunoso; Pp = Parênquima paliádico.

Nas espécies pecioladas, foram observadas estruturas semelhantes a lenticelas em ambas as faces da epiderme (Figura 8 A-G). Lenticelas normalmente são citadas para a periderme de caules, raízes e frutos (Dietz et al., 1988) e são relacionadas com a função de aeração dos tecidos internos (Mauseth, 1988). Nas folhas, entretanto, a presença de tais estruturas é considerada rara, tendo sido registradas estruturas semelhantes em representantes de Myrtaceae (Metcalf e Chalk, 1950) como *Eucalyptus incrassata* e *E. laevopinea* (Neish, et al. 1995) e em *Tripodnathus acutifolius* da família Loranthaceae (Morretes e Venturelli, 1985). Solereder (1908) faz

menção a verrugas de tecido suberificado presentes nas folhas de *Eucalyptus calophylla*, *E. globulus*, *E. gunii*, *E. megacarpa*, *E. obliqua* e *E. siderophloia*, bem como em *Acmena floribunda*. Não existe consenso em relação à denominação adequada a ser utilizada para descrever as áreas suberificadas presentes na lamina foliar (Morretes e Venturelli, 1985), especialmente porque tais estruturas embora parecidas com lenticelas ocorram na epiderme e não em periderme. Porém a função de tais estruturas é desconhecida. Muitos autores afirmam que em plantas de regiões submetidas a alagamento ocorre além do fechamento dos estômatos (Norby e Kozlowski 1983; Pezeshki e Chambers 1985a, 1985b; Sena Gomes e Kozlowski 1986; Larson et al., 1989; Wazir et al., 1988), formação de compostos fitotóxicos que se acumulam nas folhas, caules e raízes (Crawford e Zochowski 1984, Andrev e Vartapetian 1992, Marschner 1995, Kelsey 1996). Evidências indicam que tais compostos são rapidamente transportados pelas plantas a locais onde as taxas de oxigênio são maiores onde estes compostos são, então, metabolizados (Kennedy et al. 1992). Desta forma, a hipertrofia lenticelar poderia auxiliar na eliminação de compostos potencialmente tóxicos associados às condições anaeróbicas em que as plantas de regiões alagadas se encontram (Chirkova e Gutman 1972). Porém não se pode afirmar com exatidão a função de tais estruturas encontradas no presente estudo, visto que as espécies utilizadas foram cultivadas em regiões não alagadas. Um estudo comparativo amplo de espécies de *Melaleuca* ocorrentes em seu ambiente natural e em outros locais de solo seco é necessário para se estabelecer correlação de tais estruturas a fatores genéticos e/ou ambientais.

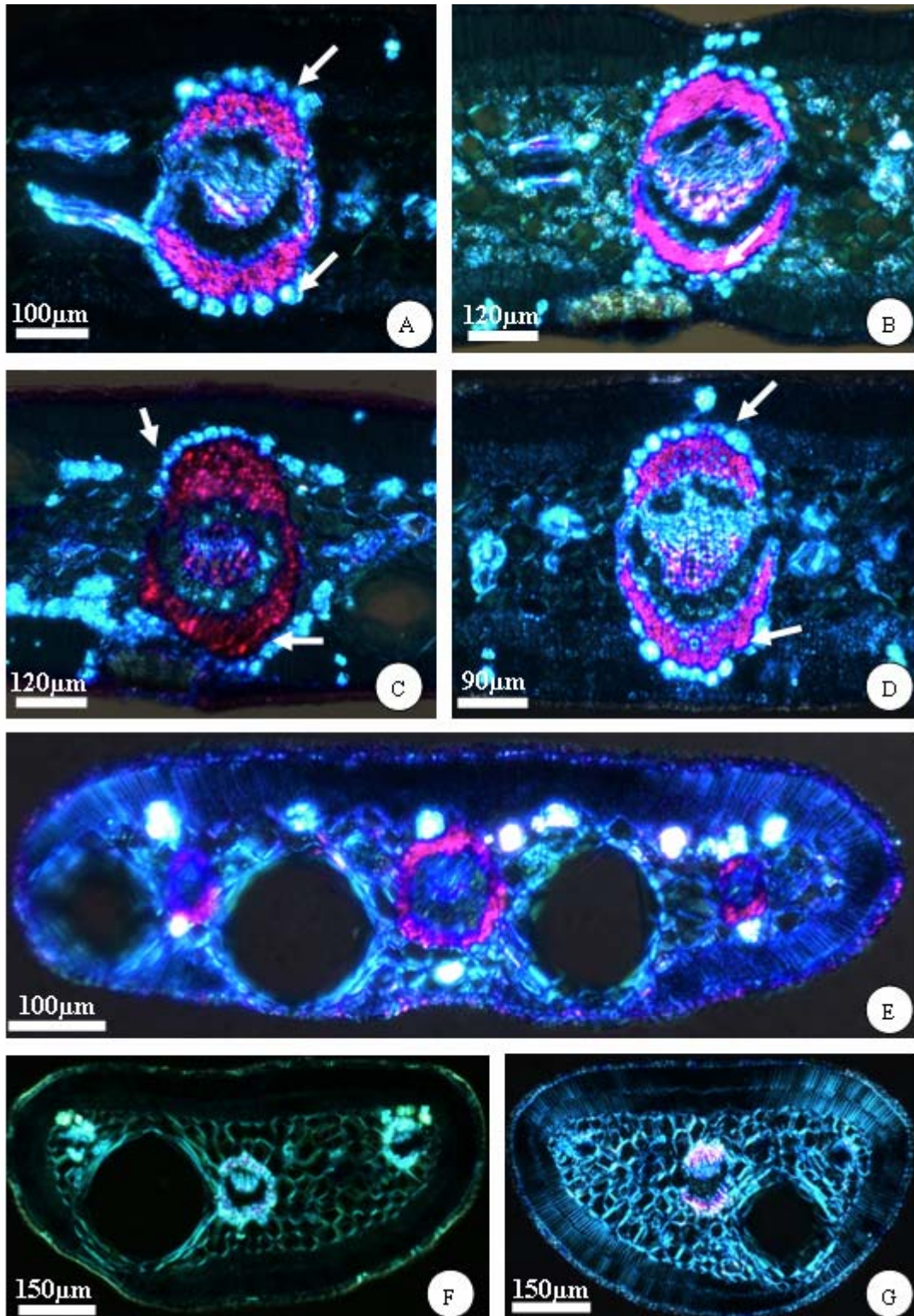


Figura 7. Corte transversal em luz polarizada evidenciando idioblastos cristalíferos contendo drusas, monocristais e bainha cristalífera em torno dos feixes vasculares de (seta): A: *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*; B: *M. leucadendra*; C: *M. quinquenervia*; D: *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*; E: *M. alternifolia*; F: *M. armillaris*; G: *M. ericifolia*. CS = cavidade secretora; F = floema; Fi = fibras; X = xilema.

3.3 - Caracteres Xeromórficos

Apesar das espécies estudadas terem uma ocorrência natural em ambientes alagados (Tabela 2.2), vários caracteres xeromórficos foram observados (Figura 9, A-G): redução foliar em *M. alternifolia*, *M. ericifolia* e *M. armillaris*. A formação de folhas pequenas, lineares está associada à redução da superfície foliar, fator que contribui para minimizar a perda de água (Dickinson, 2000). Em todas as espécies observou-se: 1. mesofilo isobilateral, compacto e com duas camadas de parênquima paliçádico. 2. Cutícula espessa, que se constitui barreira contra a perda excessiva de água, proteção contra a invasão de microrganismos e proteção contra radiação UV (Dickinson, 2000; Larcher, 2000). 3. Presença de cristas epiestomática. Os estômatos em xerófitas localizam-se freqüentemente em depressões ou estão rodeados por projeções cuticulares ou bastonetes de cera que, de algum modo, os protegem contra a perda excessiva de água e gases (Dickinson, 2000; Machado e Barros, 1995). 4. Presença de tecidos esclerenquimáticos associados aos feixes vasculares. Em xerófitas se verifica o aumento na proporção de tecidos de reforço mecânico e paredes lignificadas (Dickinson, 2000). Metcalfe e Chalk (1979) afirmam que nem sempre é possível distinguir se caracteres xeromórficos são hereditários ou se são respostas da planta a fatores ambientais. Segundo Dickinson (2000) tais caracteres podem estar relacionados à deficiência de certos nutrientes no solo. Plantas que crescem em solos com baixa retenção de água e nutrientes possuem folhas com características xeromórficas, mesmo que pertençam a ambientes de florestas tropicais (Turner et al. 1995; Medina et al., 1990; Cao, 2000). Estas espécies são classificadas como esclerófilas, termo controverso, que significa “folhas duras” (Roth, 1984). Este conceito, porém é mais utilizado quando relaciona plantas esclerófilas com deficiências hídricas sazonais, baixos teores de nutrientes no solo, defesa contra herbivoria ou mecanismos de proteção da longevidade das folhas, aumentando assim o carbono foliar por unidade de investimento (Edwards et al., 2000). Em áreas alagadas, apesar do aumento da disponibilidade de nutrientes (Ponnamperuma, 1972; Vahl, 1991), a formação de ácidos orgânicos de cadeia curta (Stevenson, 1967) causa danos principalmente ao sistema radicular (Rao e Mikkelsen, 1977; Camargo et al., 1993; Agostinetto et al., 2001) comprometendo a absorção de nutrientes (Camargo et al., 2001).

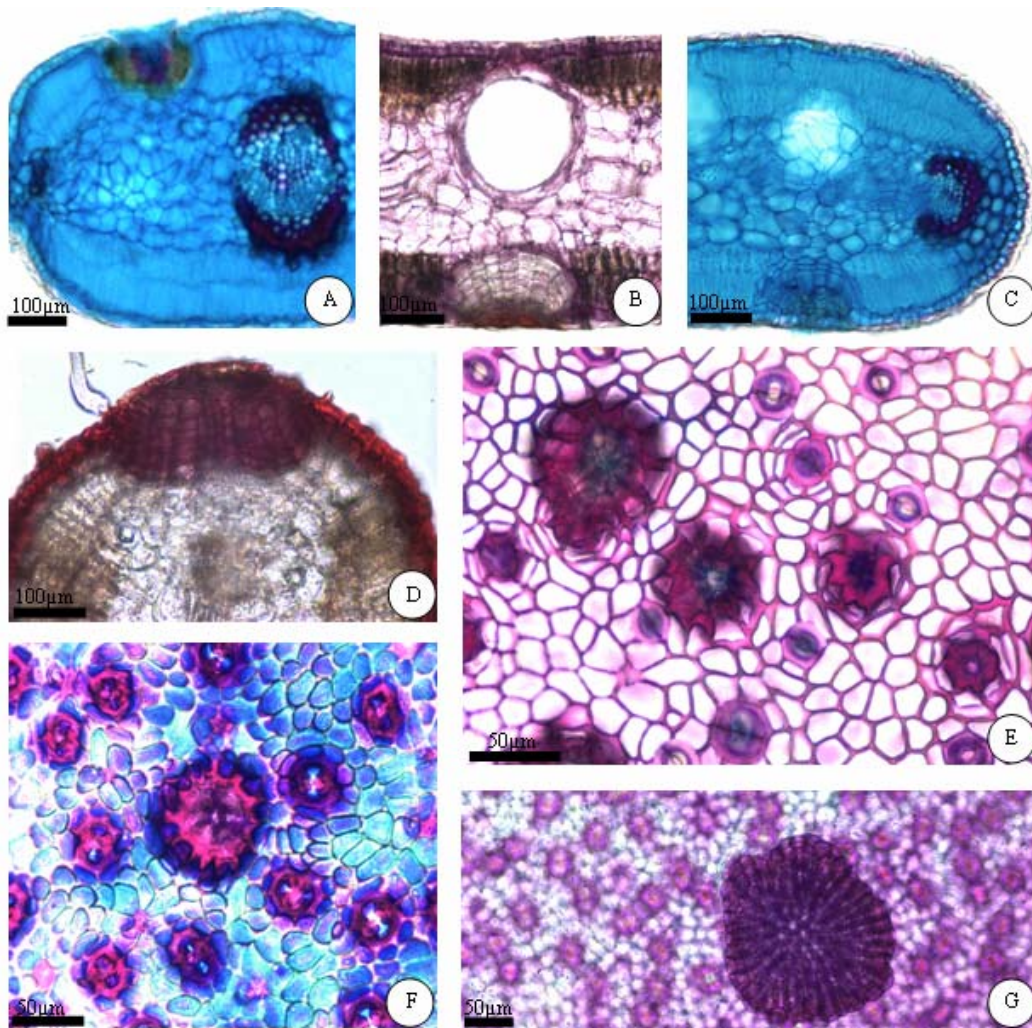


Figura 8. Corte transversal evidenciando estruturas semelhantes a lenticelas no mesofilo foliar. A: *M. cajuputi*; B: *M. leucadendra* (Vermelho de Rutênio); C: *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*; D: *M. quinquenervia* (Sudan Escarlate). Dissociação Epidérmica: E: *M. leucadendra*; F: *M. quinquenervia*; G: *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*.

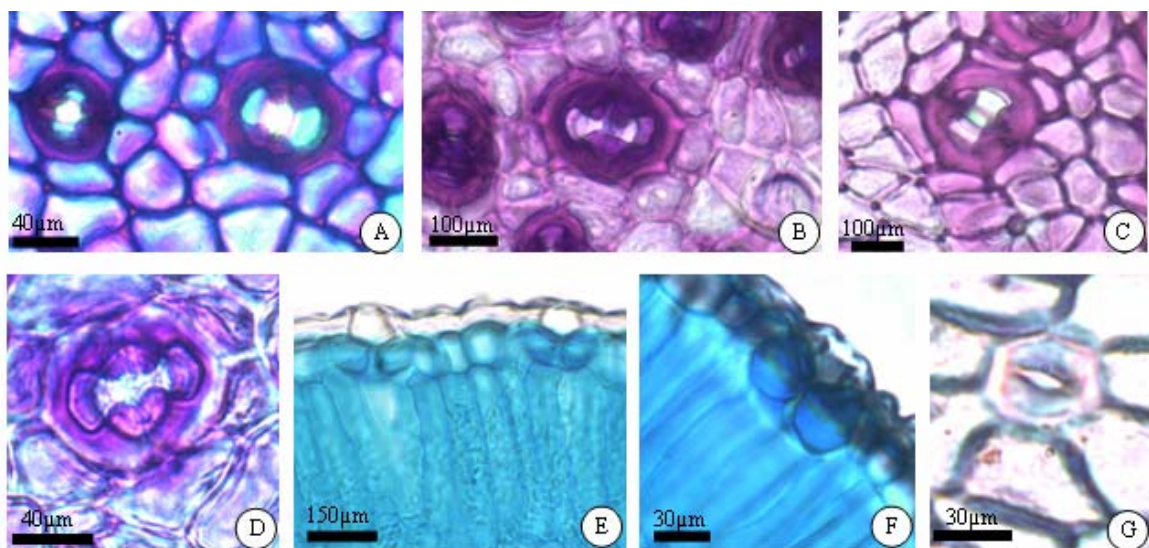


Figura 9. Detalhe da cutícula espessa formando uma crista epiestomática – Vista frontal: A: *M. leucadendra*; B: *M. cajuputi* subespécie *platyphylla*; C: *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*; D: *M. quinquenervia*. Corte Transversal: E: *M. armillaris*; F: *M. ericifolia*; G: *M. alternifolia*.

A partir daí pode-se inferir que tais caracteres xeromórficos presentes nas espécies de *Melaleuca* poderiam ser causados por deficiência de absorção de nutrientes levando ao escleromorfismo sendo que tais características foram conservadas mesmo em plantas cultivadas em locais secos. Por outro lado, as características verificadas no presente estudo podem também ser uma resposta da planta quando cultivada em locais não alagados, inviabilizando a hipótese do baixo grau de plasticidade genética destas espécies. Como nenhum estudo sobre a anatomia destas espécies ocorrentes em seu ambiente natural foi encontrado na literatura até o presente momento, as sugestões aqui feitas só poderiam ser confirmados mediante estudos comparativos de espécies de *Melaleuca* ocorrentes em seu ambiente natural e em outras regiões de cultivo.

Tabela 2.2 - Locais de ocorrência das espécies de *Melaleuca* em seu habitat natural.

Espécie	Tipo de Solo	Referência
<i>M. quinquenervia</i>	Seu melhor desenvolvimento ocorre em solos pantanosos, porém podem ocorrer em solos arenosos.	Boland et al., 1984.
<i>M. alternifolia</i>	Habita zonas ribeirinhas de água doce e pântanos.	Lee et al., 2002.
<i>M. cajuputi</i> , subespécie <i>cajuputi</i> e subespécie <i>platyphylla</i>	Habita solos pantanosos, linhas de drenagem e em solos sujeitos ao alagamento por seis meses ou mais durante o ano. Pode ocorrer também em locais secos, rochosos e de solo infértil. Esta espécie é adaptada a locais alagados tolerando até mesmo alagamento com água salgada.	Turnbull, 1986; Doram e Gunn, 1994.
<i>M. ericifolia</i>	Ocorre em locais inundados, sendo tolerante a esta condição.	Ladiges et al., 1981.
<i>M. armillaris</i>	Ocorre em solos rochosos e muito rasos, com pouca capacidade de retenção de umidade, tolerando bem as condições de seca.	Doram e Gum, 1994.
<i>M. leucadendra</i>	Ocorre em planícies de rios, litorais ou pântanos sazonais, em solos argilosos, arenosos, tolerante a solos ácidos, infecundos e pantanosos, emitindo raízes adventícias em locais alagados e tendo boa tolerância ao fogo.	Boland et al., 1984; Doram e Gum, 1994.

CONCLUSÕES

A avaliação morfológica e anatômica das sete espécies de *Melaleuca* revelou a presença caracteres de ocorrência comum na família Myrtaceae.

A simples análise do padrão de distribuição das glândulas em *M. alternifolia* e *M. armillaris* pode ser potencialmente utilizada para identificação destas espécies quando outras partes diagnósticas da planta não estão presentes.

A presença de estômatos anomocíticos e distribuídos em toda extensão da epiderme é uma característica constante nas espécies estudadas podendo vir a ser considerado como um caráter unificador para o gênero *Melaleuca*.

A presença e o tipo das células de cobertura das cavidades secretoras, aliado à outras características, pode ser utilizado como ferramenta taxonômica.

Caracteres xeromórficos foram identificados em todas as espécies bem como a presença de estruturas semelhantes a lenticelas nas folhas das espécies pecioladas. Entretanto, é necessária a análise de espécimes de *Melaleuca* ocorrentes em seu ambiente natural e em outros locais de solo seco para se estabelecer correlação de tais características a fatores genéticos e/ou ambientais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrev VY, Vartapetian BB. 1992. Induction of alcoholic and lactic fermentation in the early stages of anaerobic incubation of higher plants. *Phytochemistry* **3**: 1859-1861.

Agostinetto D, Fleck NG, Balbinot AA, Rizzardi MA, Costa ELN, Guma JMC. 2001. Ácidos orgânicos que se formam durante a decomposição da palha no solo afetam os processos de germinação e de crescimento inicial das plântulas da cultivar de arroz IRGA-417. In: *Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado*, 2., Porto Alegre, Anais. Porto Alegre, Instituto Rio Grandense do Arroz. p.894.

Arruda RCO, Fontenelle GB. 1994. Contribuição ao estudo da anatomia foliar de *Psidium cattleyanum Sabine* (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **17**: 25-35.

Boland DJ, Brooker MIH, Chippendale GM, Hall N, Hyland BPM, Johnston RD, Kleinig DA, Turner JD. 1984. *Forest Trees of Australia*. Nelson and CSIRO, Melbourne.

Boeger MRT, Wisniewski C. 2003. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* **26**: 61-72.

Camargo FAO, Santos GA, Rossiello ROP. 1993. Efeito dos ácidos acético e butírico sobre o crescimento de plântulas de arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **28**: 1011-1018.

Camargo FAO, Zonta E, Santos GA, Rossiello ROP. 2001. Aspectos fisiológicos e caracterização da toxidez de ácidos orgânicos voláteis em plantas. *Ciência Rural* **31**: 523-529.

Cao K-F. 2000. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. *Canadian Journal of Botany* **78**: 1245-1253.

Cardoso CMV, Sajo MG. 2004. Vasculature and identification of *Eugenia* (Myrtaceae) from the bank of Tibagi River, State of Paraná. *Revista Brasileira de Botânica* **27**: 47-54.

Castro C, Silva ML, Pinheiro AL, Jacovine LAG. 2005. Análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Revista Árvore* **29**: 241-249.

Castro MM. 1987. Estruturas secretoras em folhas de espécies da família Asteraceae: aspectos estruturais e histoquímicos. São Paulo, 252 p. *Tese-Doutorado* - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

Costa CG, Machado RD, Fontenell, JB. 1995. Sistema vascular em folhas de *Eugenia L.* (Myrtaceae). *Bradea* **42**: 345-356.

- Crawford RMM, Zochowski ZM. 1984.** Tolerance of anoxia and ethanol toxicity in chickpea seedlings. *Journal of Experimental Botany* **35**: 1472-1480.
- Cronquist A. 1981.** *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University: New York.
- Dickison WC. 2000.** *Integrative plant anatomy*. New York: Academic Press, United States of America.
- Dietz TH, Thimma-Raju, KR, Joshi SS. 1988.** Structure and development of cuticle and lenticels in fruits of certain cultivars of mango. *Acta Horticulture* **231**: 457-60.
- Doran JC, Gunn BV. 1994.** Exploring the Genetic Resources of Tropical Melaleucas. *Forest Genetic Resources Bulletin* **22**: 12-24.
- Edwards C, Read J, Sanson G, 2000.** Characterizing sclerophylly: some mechanical properties of leaves from heath and forest. *Oecologia* **123**: 158-167.
- Esau K. 1977.** *Anatomy of seed plants*. 2 ed. John Wiley e Sons, New York.
- Esau K. 1965.** *Plant anatomy*. John Wiley, New York.
- Fahn A. 1990.** *Plant anatomy*. 4 ed. Pergamon Press, Oxford.
- Fahn A, Cutler D. 1992.** *Xerophytes*. BerlinGebrüder Borntraeger.
- Fontenelle JB, Costa CG, Machado RD. 1994.** Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Botanical Journal of Linnean Society* **115**: 111-133.
- Howard RA. 1979.** The petiole. In *Anatomy of the dicotyledons* (C.R. Metcalfe e L. Chalk, eds.). Clarendon Press, Oxford, v.1, p.88-96.
- Haword L. 1999.** *Tea tree – Genus Melaleuca*. Academic Publishers, The Netherlands.
- James SA, Smith WK, Vogelmann TC. 1999.** Ontogenetic differences in mesophyll structure and chlorophyll distribution in *Eucalyptus globules* ssp. *globules* (Myrtaceae). *American Journal of Botany* **86**: 198-215.
- Johansen DA. 1940.** *Plant microtechnique*. London: McGraw Hill.
- Judd WS, Campbell CS, Kellog EA et al. 2002.** *Plant Systematics: a phylogenetic approach*. 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates.
- Keating RC. 1989.** Leaf histology and its contribution to relationships in the Myrtales. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **71**: 801-823.
- Kelsey RG. 1996.** Anaerobic induced ethanol synthesis in the stems of greenhouse-grown conifer seedlings. *Trees* **10**: 183-188.

- Kennedy RA, Rumpho ME, Fox TC. 1992.** Anaerobic metabolism in plants. *Plant Physiology* **100**: 1-6.
- Khatijah HH, Cutler DR, Moore DM. 1992.** Leaf anatomical studies of *Eugenia* L. (Myrtaceae) species from Malay Peninsula. *Botanical Journal of Linnean Society* **110**: 137-156.
- Kraus JE, Arduin M. 1997.** *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR Seropédica, Rio de Janeiro.
- Ladiges PY, Foord PC, Willis RJ. 1981.** Salinity and waterlogging tolerance of some populations of *Melaleuca ericifolia* Smith. *Australian Journal of Ecology* **6**: 203-215.
- Larcher W. 2000.** *Ecofisiologia Vegetal*. Tradução: Carlos H. B. A. Prado. Rima, São Paulo.
- Larson KD, Schaffer B, Davies FS. 1989.** Flooding, leaf gas exchange and growth of mango in containers. *Journal of the American of Society Horticulture Science* **116**: 156-160.
- Lee LS, Brooks LO, Homer LE, Rossetto M, Henry RJ, BaverstockP.R. 2002.** Geographic variation in the essential oils and morphology of natural populations of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **30**: 343–360.
- List S, Brown PH, Walsh KB. 1995.** Functional anatomy of the oil glands of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany* **43**: 629 – 641.
- Machado RD, Barros CF. 1995.** Epidermis and epicuticular waxes of *Syagrus coronata* leaflets. *Canadian Journal of Botany* **73**: 1947-1952.
- Marschner H. 1995.** *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press, London.
- Mauseth JD. 1988.** *Plant anatomy*. Benjamin Cummings, Menlo Park.
- Medina E, Garcia V, Cuevas E. 1990.** Sclerophylly and oligotrophic environments: relationships between leaf, structure, mineral nutrient content, and drought resistance in tropical rain forest of the upper Rio Negro region. *Biotropica* **22**: 51-64.
- Metcalf CR, Chalk L. 1950.** *Anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon, Oxford.
- Metcalf CR, Chalk L. 1975.** *Anatomy Dicotyledons. I e II*. Oxford at the Clarendon Press.
- Metcalf CR, Chalk L. 1979.** *Anatomy of the dicotyledons*. 2.ed. Oxford: Oxford University Press.
- Metcalf CR, Chalk L. 1983.** *Anatomy of the Dicotyledons: Wood Structure and Conclusion of the General Introduction*. v.2. New York, Oxford University Press.

- Metcalf CR, Chalk L. 1988.** *Anatomy of the Dicotyledons*. 2 ed. Clarendon, Oxford.
- Morretes BL, Venturelli M. 1985.** Ocorrência de "lenticelas" em folhas de *Tripodanthus acutifolius* (R. e P.) Tiegh. (Loranthaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **8**: 157-162.
- Neish PG, Drinnan AN, Ladiges PY. 1995.** Anatomy of leaf-margin lenticels in *Eucalyptus denticulata* and three other eucalypts. *Australian Journal of Botany* **43**: 211-221.
- Neves LJ, Donato AM. 1989.** Contribuição ao estudo de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). *Bradea* **5**: 1-10.
- Norby RJ, Kozlowski TT. 1983.** Flooding and SO₂-stress interaction in *Betula papyrifera* and *B. nigra* seedlings. *Forest Science* **29**: 739-750.
- Pinheiro AL, Almeida EC. 2000.** *Fundamentos da Taxonomia e Dendrologia Tropical*. Viçosa: SIF, v.2.
- Ponnamperuma FN. 1972.** The chemical of submerged soils. *Advances in Agronomy* **24**: 29-96.
- Radford AE, Dickison WC, Massey JR, Bell CR. 1974.** *Vascular Plants Systematics*. Harper e How, New York.
- Rao DN, Mikkelsen DS. 1975.** Effect of acetic, propionic, and butyric acids on young rice seedlings' growth. *Agronomy Journal* **69**: 923-928.
- Roth I. 1984.** *Stratification of tropical forest as seen in leaf structure*. Tasks for Vegetation Science. Ed. H. Lieth. Junk, The Hague.
- Sena-Gomes AR, Kozlowski TT. 1986.** Effect of flooding on water relations and growth of *Theobroma cacao* var. *catongo* seedlings. *Journal of the Horticulture Science* **61**: 265-276.
- Solereder H. 1908.** *Systematic anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford, v.1, p.350-355.
- Stevenson FJ. 1967.** *Organic acids in soil*. In: McLaren, A.D., Peterson, G.H., eds. *Soil biochemistry*. Arnold, p.119-146.
- Turnbull JW. 1986.** *Multipurpose Australian Trees and Shrubs*. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- Turner IM, Ong BL, Tan HYW. 1995.** Vegetation analysis, leaf structure and nutrient status of a Malaysian heath community. *Biotropica* **27**: 2-12.

Vahl LC. 1991. Toxidez de ferro em genótipos de arroz irrigado por alagamento. *Tese de Doutorado em Ciência do Solo*. Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Waldhoff D, Furch B. 2002. Leaf morphology and anatomy in eleven tree species from Central Amazonian floodplains (Brazil). *Amazoniana Kiel* **17**: 79-94.

Wazir FK, Smith MW, Akers SW. 1988. Effects of flooding on phosphorous levels in pecan seedlings. *Hortscience* **23**: 595-597.

Wilkinson HP. 1979. *The plant surface*. In: Metcalfe, C.R., Chalk, L. (Eds.). *Anatomy of the Dicotyledons - Systematic Anatomy of the leaf and stem*. Oxford: Clarendon Press, p. 97-165, v.1.

CAPÍTULO 3:
HISTOQUÍMICA DAS CAVIDADES SECRETORAS DE TRÊS
ESPÉCIES DE *Melaleuca* L. (MYRTACEAE) CULTIVADAS NO
BRASIL

RESUMO: Realizou-se o estudo histoquímico das cavidades secretoras de três espécies de *Melaleuca* cultivadas no Brasil. O sistema secretor das folhas das três espécies é constituído por numerosas cavidades próximas a epiderme e na interface entre parênquima paliçádico e lacunoso. Os testes histoquímicos revelaram a presença de terpenóides e substâncias lipofílicas no lume das cavidades secretoras das três espécies e de esteróides no secretado de *M. alternifolia* e *M. quinquenervia*, indicando que as substâncias aí liberadas têm composição química heterogênea, o que confirma o potencial farmacológico destas espécies. Os resultados dos testes histoquímicos estão em consonância com a composição química dos óleos essenciais obtidos por CG e CG-MS. Os testes indicaram também a presença de compostos fenólicos, dentre eles, taninos condensados nas células do parênquima paliçádico e lacunoso de *M. leucadendra* e *M. quinquenervia* indicando serem estes os prováveis sítios de síntese e acúmulo destas substâncias nestas espécies. Não foi evidenciada a presença de alcalóides no mesófilo foliar das três espécies estudadas

ABSTRACT: A histochemical study on secretory cavities of three *Melaleuca* species cultivated in Brazil was carried out. The leaf secretory system of the three species consists of numerous cavities adjacent to the epidermis and in the interface between the palisade and spongy parenchymas. Histochemical tests confirmed the presence of terpenoids and lipophilic substances in the lumen of the secretory cavities of the three species and steroids in secretion of *M. alternifolia* and *M. quinquenervia*, which indicates that the secreted substances have heterogeneous chemical composition, confirming the pharmacological potential of these species. The results of the histochemical tests agree with the chemical composition of essential oils obtained by GC and GC-MS. The tests also indicated the presence of phenolic compounds, such as condensed tannins, in the palisade and spongy parenchyma cells of *M. leucadendra* and *M. quinquenervia*, indicating that these are the probable sites of synthesis and accumulation of these substances in the species. The presence of alkaloids in the leaf mesophyll was not confirmed in any of the three studied species.

1. INTRODUÇÃO

A presença de cavidades secretoras nos órgãos vegetativos é uma característica peculiar da família Myrtaceae, que possui cerca de 130 gêneros e aproximadamente 4000 espécies concentradas na região neotropical e com centros de distribuição na Austrália e América (Keating, 1984). Esta família apresenta várias espécies produtoras de óleos essenciais de uso nos diversos ramos da indústria, que possuem composição diversa: substâncias de natureza lipofílica, polifenóis, substâncias aromáticas, monoterpenos, triterpenos e sesquiterpenos (Fahn, 1979; Cronquist, 1981; Metcalfe, 1989).

O gênero *Melaleuca* compreende aproximadamente de 150 a 230 espécies descritas em todo o mundo (Boland et al., 1984; Cronquist, 1981; Harwod, 1999) e pertence à subfamília Leptospermoideae, ocorrendo predominantemente na Austrália (Cronquist, 1981; Harwod, 1999). Assim como as espécies do gênero *Eucalyptus*, as espécies deste gênero produzem óleo essencial que tem sido amplamente estudado devido as suas propriedades medicinais (Lassak e McCarthy, 1983).

Diversos autores têm se dedicado, nas últimas décadas, ao estudo das estruturas secretoras, dentre eles destacando-se Fahn (1979; 1988); Bentley e Elias (1983), Rodriguez et al. (1984) e Roshina e Roshina (1993). Locais de síntese e acúmulo de terpenos, componentes dos óleos essenciais, bem como as características estruturais dos tecidos secretores têm sido identificadas histoquimicamente (Ascensão et al., 2005; 1998^a, 1998^b; Gershenzon et al., 1989) contribuindo para o conhecimento dos processos de síntese e acúmulo dos secretados nas diversas espécies. O estudo das estruturas secretoras é de grande importância tanto para o conhecimento da sua organização e funcionamento no corpo do vegetal, quanto para o tipo de material secretado (Castro, 1987), podendo também ser utilizado como caráter taxonômico (Metcalfe e Chalk, 1950). West (1969) afirma que as famílias primitivas do complexo basal ranaleano têm como característica unificadora a presença de idioblastos e cavidades secretoras. Famílias como Myrtaceae, Rutaceae, Flacourtiaceae e Teaceae podem em muitos casos ser identificadas pela análise das estruturas secretoras (Gentry, 1993).

Metcalfe e Chalk (1950) referem 40 famílias que apresentam cavidades cujos conteúdos secretados eram desconhecidos. Estudos que revelem a natureza química dos

secretados podem ser uma ferramenta adicional à identificação taxonômica. Apenas o estudo de List e Walsh (1995) sobre a ontogenia das estruturas secretoras de *Melaleuca alternifolia* foi encontrado na literatura, não se verificando nenhum estudo sobre a histolocalização das estruturas produtoras de óleos essenciais, bem como sua caracterização nas diversas espécies do gênero *Melaleuca*. O Capítulo 1 deste trabalho revelou a presença de um padrão diferenciado na composição química do óleo essencial das espécies de *Melaleuca* estudadas, o que pode indicar ocorrência de estruturas secretoras diferenciadas em cada espécie. Sendo assim, presente trabalho tem como objetivo a caracterização estrutural e histoquímica das cavidades secretoras de *M. alternifolia*, *M. leucadendra* e *M. quinquenervia* cultivadas no município de Viçosa, estado de Minas Gerais-Brasil.

1. MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e Identificação das Plantas

Melaleuca alternifolia Cheel, *M. quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake e *M. leucadendra* (L.) L. foram coletadas em populações cultivadas do arboreto do Departamento de Engenharia Florestal, Setor de Dendrologia, no *campus* da Universidade Federal de Viçosa (altitude: 697m, latitude: 20° 46' 24.4''S, longitude: 42° 52' 28.9''W), sendo em seguida identificados, herborizados e incorporados ao acervo do Herbário VIC (30839; 30841 e 30842, respectivamente).

Análise Histoquímica

Para a realização dos testes histoquímicos foram utilizadas folhas adultas e frescas com o intuito de se identificar as principais classes de metabólitos produzidos. As folhas foram seccionadas transversal e longitudinalmente utilizando-se micrótomo de mesa (Modelo LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA, Belo Horizonte, Brasil).

Os cortes foram submetidos aos testes descritos na Tabela 3.1. Secções controle foram realizadas simultaneamente, segundo recomendações dos respectivos autores dos testes histoquímicos (Tabela 3.1).

A análise e a documentação fotográfica foram realizadas em microscópio de luz (Modelo AX70TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão), conectado a um sistema de

fotomicrografia (U-Photo), pertencente ao Laboratório de Anatomia Vegetal, do Departamento de Biologia Vegetal da UFV.

Tabela 3.1 - Metodologias utilizadas para detectar as principais classes de metabólitos secundários.

	Grupos de Metabólitos	Teste Aplicado
Lipídios	Lipídios Totais	Sudan Vermelho Escarlata (Johansen, 1940)
	Lipídios Ácidos e Neutros	Sulfato Azul de Nilo (Cain, 1947)
Terpenóides	Óleos Essenciais e Óleo-resinas	Reagente de Nadi (David e Carde, 1964)
	Esteróides	Tricloreto de Antimônio (Hardman e Sofowora, 1972 Mace et al., 1974)
Compostos Fenólicos	Compostos Fenólicos Gerais	Dicromato de Potássio (Gabe, 1968)
	Taninos	Vanilina Clorídrica (Mace e Howell, 1974)
	Lignina	Floroglucinol (Jensen, 1962)
Polissacarídeos	Amido	Lugol (Johansen, 1940)
	Polissacarídeos Gerais	PAS (McManus, 1948)
	Pectinas	Vermelho de Rutênio (Johansen, 1940)
Proteínas		Xilidine Pounceau (XP) (O' Brien e McCully, 1981)
Alcalóides		Reagente de Wagner (Furr e Mahlberg, 1981)

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rendimento do óleo essencial

M. alternifolia, apresentou rendimento superior (4,0%) em relação à *M. leucadendra* (1,6%) e *M. quinquenervia* (1,5%). O estágio de desenvolvimento da planta associado à fatores como condições nutricionais, estresse hídrico ou estresse provocado por injúrias, temperatura, poluição do ar, luminosidade dentre outros podem influenciar na produção de metabólitos secundários. Penfold et al. (1948) observaram que espécies que ocorrem em regiões com condições ambientais semelhantes podem apresentar composições de óleos essenciais diferenciadas. Isto pode indicar que a composição do óleo essencial pode ser considerada como sendo produto muito mais do controle genético que das condições ambientais. Dale et al. (2004), porém sugerem maior influência das condições ambientais sobre a composição do óleo essencial dos diversos quimiótipos de *M. alternifolia*.

Composição do óleo essencial

A composição dos óleos essenciais das sete espécies de *Melaleuca* estudadas é apresentada na Tabela 3.2.

Os componentes encontrados em maiores proporções foram terpinen-4-ol em *M. alternifolia* (53,7%), viridiflorol como componente majoritário de *M. quinquenervia* (71,0%) e Metil eugenol como maior constituinte do óleo essencial de *M. leucadendra* (96,6%).

Tabela 3.2 – Teores (%) dos principais componentes identificados dos óleos essenciais de três espécies de *Melaleuca* determinados por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. **IRt** = índice de Retenção tabelado; **IRc** = índice de Retenção calculado; **MLD** = *M. leucadendra*; **MQQ** = *M. quinquenervia*; **MAL** = *M. alternifolia*.

COMPOSTO	IRt	IRc	MLD	MQQ	MAL
α -pineno	939	935	-	4.02	-
Terpineno	1018	1019	-	-	7.60
ρ -Cimeno	1026	1023	-	-	3.70
1.8-cineol	1033	1032	-	7.16	-
γ -Terpineno	1062	1060	-	-	18.90
α -terpinoleno	1088	1089	-	-	3.05
α -terpineol	1189	1189	-	2.20	3.70
Terpinen-4-ol	1177	1174	-	-	53.70
Metil Eugenol	1401	1416	96.60	-	-
Espatuleno	1576	1575	0.30	-	-
Globulol	1583	1583	0.31	-	2.05
Viridiflorol	1589	1589	0.21	71.0	1.62
Óxido de cariofileno	1581	1581	-	3.50	-

Análise Histoquímica

O sistema secretor das folhas das três espécies estudadas é constituído por numerosas cavidades próximas à epiderme e na interface entre o parênquima paliçádico e lacunoso. O padrão de distribuição e a frequência das estruturas secretoras são importantes para fins diagnósticos (Metcalf e Chalk, 1989). O tipo e a posição das cavidades secretoras presentes nas folhas, bem como a morfologia do epitélio secretor,

foram utilizados por Keating (1984) para estudo das relações filogenéticas dentro da Ordem Myrtales. O autor verificou que a ocorrência de cavidades nas 14 famílias estudadas é rara, encontradas apenas nas famílias Myrtaceae e Psiloxilaceae, sendo caracterizada pela presença de epitélio secretor com uma camada de células.

As cavidades possuem, em secção transversal, lume circular delimitado por epitélio secretor. List e Walsh (1995) observaram que em *M. alternifolia* as cavidades são de origem esquizógena ou lisígeno-esquizógena, característica já observada por Metcalfe e Chalk (1983) para a família Myrtaceae. As cavidades secretoras geralmente se formam a partir de uma única célula, e se desenvolvem centrifugamente (Mauseth, 1988). Kalachanis e Psaras (2005) observaram este padrão de formação das cavidades em *Myrtus communis* (Myrtaceae) a partir de uma única célula epidérmica que, após sofrer divisões periclinais, seguidas de divisões anticlinais, e várias divisões oblíquas, originou por esquizogênese a cavidade secretora.

No lume das cavidades, em material fresco, observou-se uma secreção translúcida em *M. alternifolia* e *M. leucadendra* e de coloração fortemente amarelada em *M. quinquenervia*, que se condensavam na forma de gotas (Figuras 1, A-C).

Os resultados das análises histoquímicas das cavidades secretoras estão resumidos na Tabela 3.3. O teste com Sudan Escalarte evidenciou a presença de substâncias lipofílicas no lume das cavidades secretoras das três espécies (Figura 1, D-E). A natureza lipofílica do óleo essencial de *M. alternifolia* permite sua eficiente penetração na pele, o que reforça seu uso no tratamento tópico de infecções cutâneas, além disso, estudos recentes demonstram a interação dos óleos essenciais desta espécie com membranas celulares potencializando o tratamento de melanoma humano (Giordani et al., 2006). A reação com tricloreto de antimônio detectou a presença de esteróides no secretado de *M. alternifolia* e *M. quinquenervia* (Figura 2, E). Resultados semelhantes foram observados para os secretados de espécies da família Compositae, onde alguns terpenóides detectados por este método podem ser esteróides (Ascensão, 1988). Na família Myrtaceae, Neira Gonzáles et al. (2005) identificaram a presença desta classe de substâncias em *Psidium guineense*. Nenhum esteróide foi detectado no estudo da composição química dos óleos essenciais das três espécies de *Melaleuca* estudadas. Isto se deve ao fato destas substâncias apresentarem alta massa molecular, sendo, portanto pouco voláteis, não sendo extraídas pelo método de hidrodestilação (Patitucci et al., 1995). Secreções heterogêneas encontradas nas cavidades secretoras de

algumas espécies podem ser resultantes de mistura de óleos essenciais e compostos fenólicos (Castro e Machado, 2003). Este conceito pode ser aplicado ao secretado das espécies aqui estudadas, já que os testes para lipídios e esteróides foram positivos no material localizado nas cavidades secretoras de *M. quinquenervia* e *M. leucadendra*, indicando que as substâncias aí liberadas têm composição química heterogênea.

A natureza lipídica das substâncias presentes nos cavidades secretores foi revelada pela reação ao Azul do Nilo: em *M. leucadendra* observou-se coloração rósea, típica de lipídios neutros, e coloração azul em *M. alternifolia* e *M. quinquenervia*, indicativa de lipídios ácidos (Figura 2, D). O resultado é coerente com os estudos químicos dos óleos essenciais destas espécies, onde se verificou a presença de Metil eugenol como componente majoritário de *M. leucadendra*, sendo este composto de caráter neutro. Já *M. alternifolia* e *M. quinquenervia* apresentaram terpinen-4-ol e viridiflorol, respectivamente, compostos de natureza fracamente ácida devido à presença de hidroxilas em sua estrutura química (Barbosa, 2004) (Figura 4).

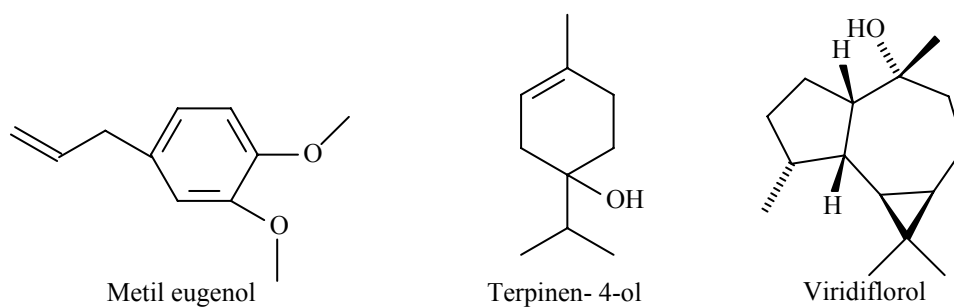


Figura 4. Principais componentes dos óleos essenciais de *M. leucadendra* (metil eugenol), *M. alternifolia* (terpinen-4-ol) e *M. quinquenervia* (viridiflorol).

Tabela 3.3 – Caracterização histoquímica das cavidades das folhas de *M. alternifolia* (MAL); *M. leucadendra* (MLD) e *M. quinquenervia* (MQQ).

Grupo de Compostos	Teste	Ducto					
		Lume			Epitélio		
		MAL	MLD	MQQ	MAL	MLD	MQQ
Lipídios	Sudan Vermelho Escarlate	+	+	+	-	-	-
	Azul do Nilo	+	+	+	-	-	-
Terpenóides	Reagente de Nadi	+	+	+	-	-	-
	Tricloreto de Antimônio	+	-	+	-	-	-
Compostos Fenólicos	Dicromato de Potássio	-	-	-	-	+	+
	Vanilina Clorídrica	-	-	-	-	+	+
	Floroglucinol	-	-	-	-	-	-
Polissacarídeos Neutros	PAS	-	-	-	-	-	-
	Lugol	-	-	-	-	-	-
	Vermelho de Rutênio	-	-	-	-	-	-
Proteínas Totais	Xilidina Ponceau	-	-	-	-	-	-
Alcalóides	Reagente de Wagner	-	-	-	-	-	-

+ = reação positiva; - = reação negativa.

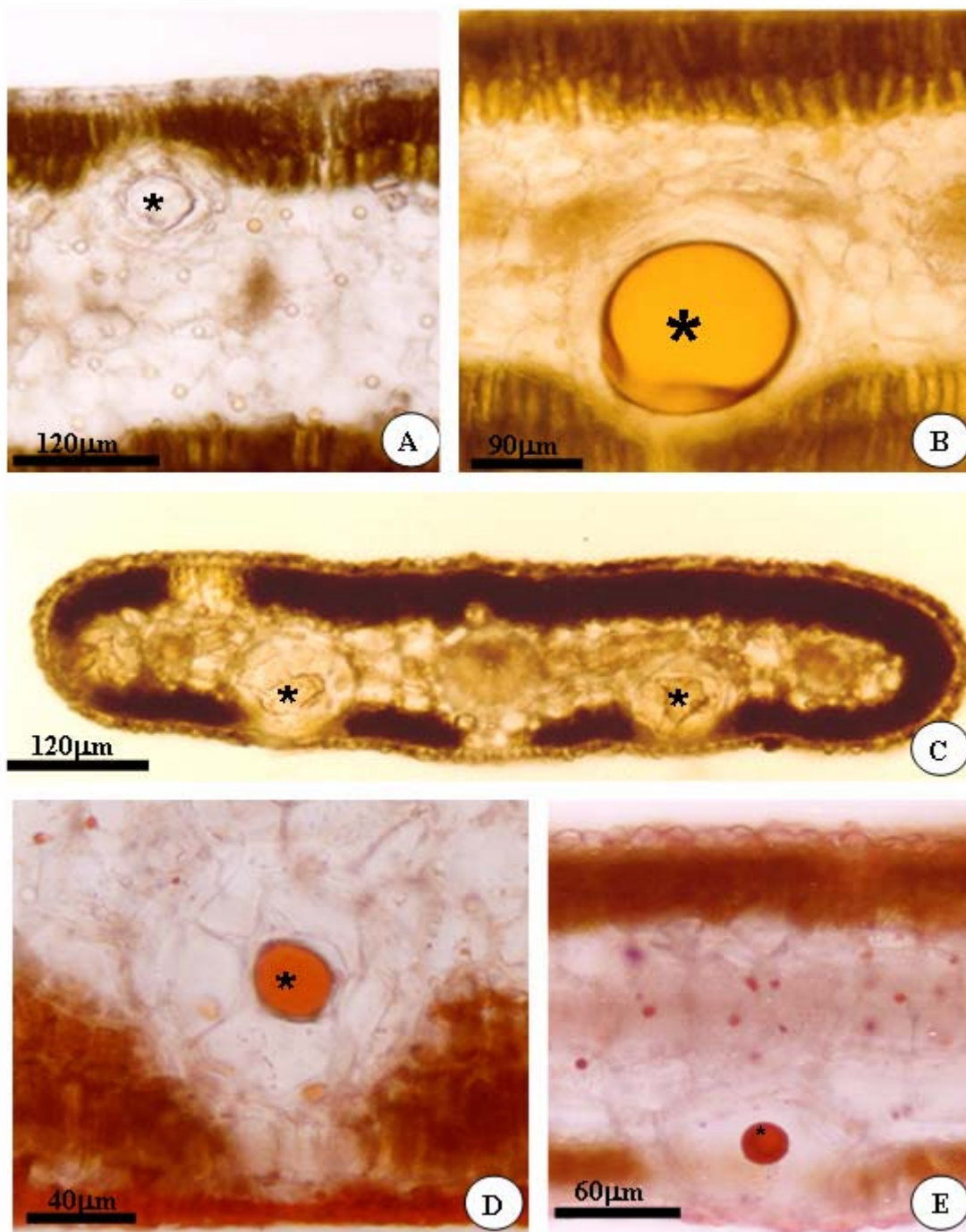


Figura 1. Cortes histológicos de folhas frescas de *Melaleuca*. A-C: Cortes observados sem coloração (Branco), notar o aspecto da secreção no lume da cavidade de *M. leucadendra* (A) de *M. quinquenervia* (B) e *M. alternifolia* (C). D-E: cortes submetidos ao Sudan Vermelho Escarlate. D: *M. leucadendra*. E: *M. alternifolia*.

A secreção no lume da cavidade de *M. quinquenervia* e *M. alternifolia* reagiu positivamente ao teste com reagente de Nadi para detecção de terpenóides. Observou-se uma coloração azul típica de óleos essenciais em *M. alternifolia* e coloração verde no secretado de *M. quinquenervia* (Figura 2, B), que certamente se deve ao fato da

secreção presente no lume em material fresco nesta espécie apresentar coloração amarela intensa (Figura 1, B).

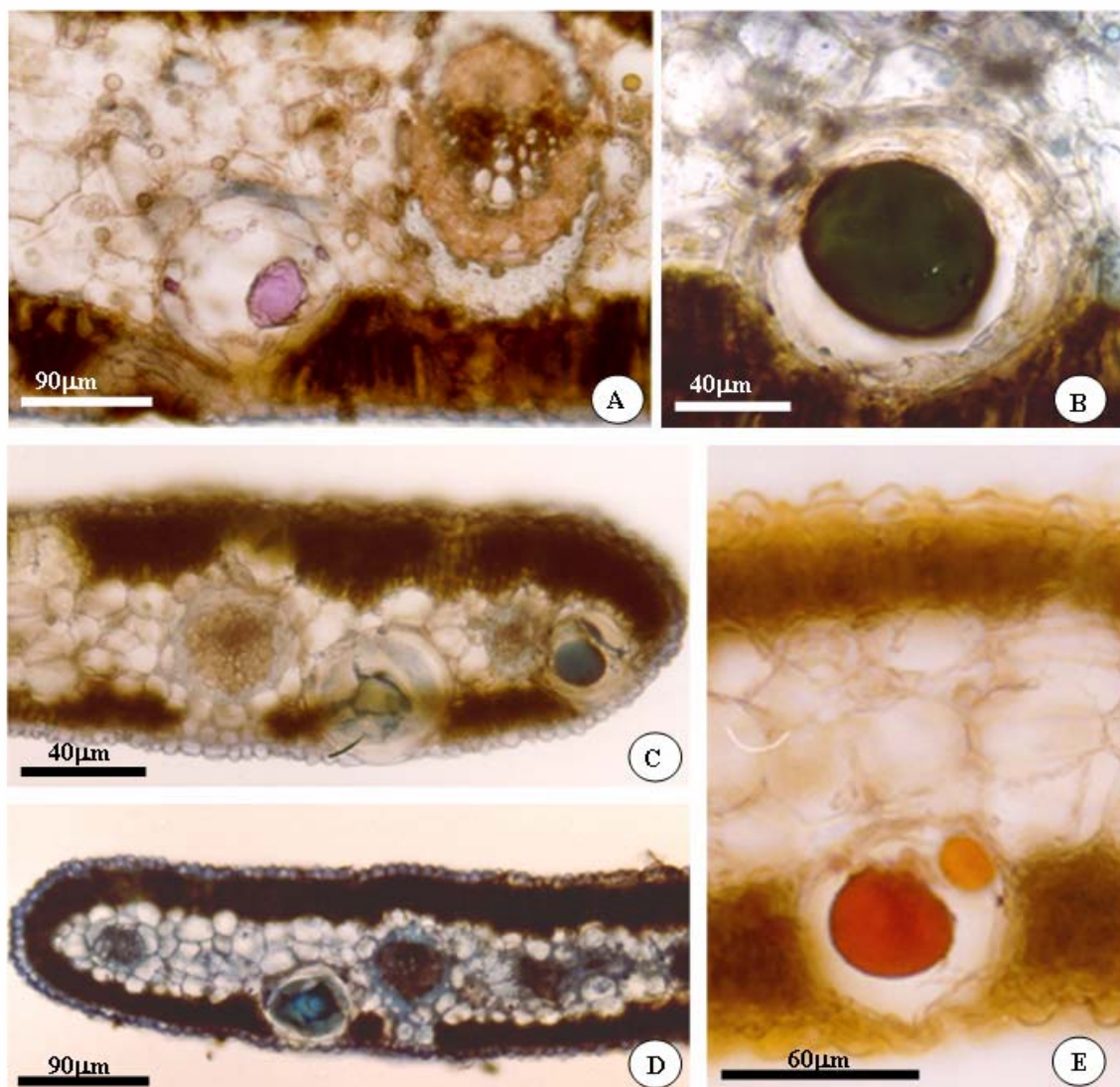


Figura 2. Cortes histológicos de folhas frescas de *Melaleuca*. A-C: cortes submetidos ao Reagente de Nadi. A: *M. leucadendra*. B: *M. quinquenervia*. C: *M. alternifolia*. D-E: cortes de *M. alternifolia* submetidos ao Azul do Nilo (D) e Tricloreto de Antimônio (E).

A partir daí conclui-se que a coloração verde observada é resultado da combinação da cor amarela do material fresco com o azul da reação ao Nadi (Figuras 2, A; C). A presença de óleos essenciais nestas espécies já foi relatada em diversos estudos químicos, com ênfase em suas propriedades antimicrobianas (Carson et al., 2006, Ferrarese et al., 2006, Silva et al., 2003, dentre outros). *M. leucadendra*, porém apresentou coloração violeta-rósea típica de mistura entre óleo essencial e resina (Figura 2). A ocorrência de terpenóides foi comprovada pelo estudo químico realizado dos óleos essenciais destas três espécies, cujos resultados são apresentados na Tabela 3.2.

A presença de terpinen-4-ol em *M. alternifolia* (53,7%), viridiflorol como componente majoritário de *M. quinquenervia* (71,0%) confirmam os resultados observados dos testes histoquímicos. Da mesma forma a presença do fenilpropanóide Metil eugenol como maior constituinte do óleo essencial de *M. leucadendra* (96,6%) confirma o resultado positivo para óleo-resina e não para óleos essenciais como nas demais espécies onde os componentes majoritários do secretado são terpenóides. Os óleos essenciais contêm voláteis de baixo peso molecular enquanto as resinas representam mistura de terpenos voláteis e não voláteis (Fahn, 1979).

Parte do conteúdo celular presente nos vacúolos das células do parênquima paliçádico e lacunoso reagiu positivamente ao dicromato de potássio (Figura 3, A) e à vanilina clorídrica, revelando a natureza fenólica de seus compostos (provavelmente taninos condensados), presentes também nas células epiteliais da cavidade secretora de *M. leucadendra* e *M. quinquenervia* (Figura 3, B-C). Alguns estudos indicam a presença de taninos na família Myrtaceae. A abundância desta substância nas folhas de *Eugenia dysenterica* confirma a aplicação antidiarréica desta espécie (Palhares, 2003). Da mesma forma, a presença de quantidades consideráveis de tanino e flavonóides, na folha de *Pimenta pseudocaryophyllus*, indicam seu potencial uso farmacológico (Paula et al., 2005). Okuda et al. (1987) isolaram taninos hidrolisáveis das folhas de *Psidium guajava*. As folhas de *Syzygium cumini* são ricas em taninos e saponinas (Kapoor, 1990). Segundo Cruz e Kaplan (2004), a família Myrtaceae caracteriza-se quimicamente pela presença de taninos, flavonóides, monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, derivados do floroglucinol, cromenos, estilbenos e outros. Yoshida et al. (1996) afirmam que as informações sobre a presença de taninos em espécies de *Melaleuca* são parcialmente documentadas. O mesmo autor relata a presença de um novo tanino hidrolisável isolado dos frutos de *M. leucadendra*. Nenhum estudo fitoquímico indicando o isolamento destas substâncias de folhas de espécies do gênero *Melaleuca* foi encontrado. Outros estudos fitoquímicos revelam a presença de uma nova classe de flavonóides denominada leucadendrona (β -triketona flavonona) das folhas de *M. leucadendra* (Lee, 1999). Estas ciclopolicetonas são raras, estando presentes apenas em espécies do gênero *Eucalyptus* e gêneros relacionados (Ghisalberti, 1996). Já para os frutos de *M. quinquenervia*, estudos fitoquímicos têm revelado ocorrência de um novo flavonóide com estrutura trifenilmetano, denominado melanervina (Seligmann e Wagner, 1981). A reação positiva à Vanilina Clorídrica e ao Dicromato de Potássio nas células do parênquima lacunoso e paliçádico e no epitélio secretor das cavidades indica

serem estes os prováveis sítios de síntese e acúmulo destas substâncias de natureza fenólica em *M. quinquenervia* e *M. leucadendra*.

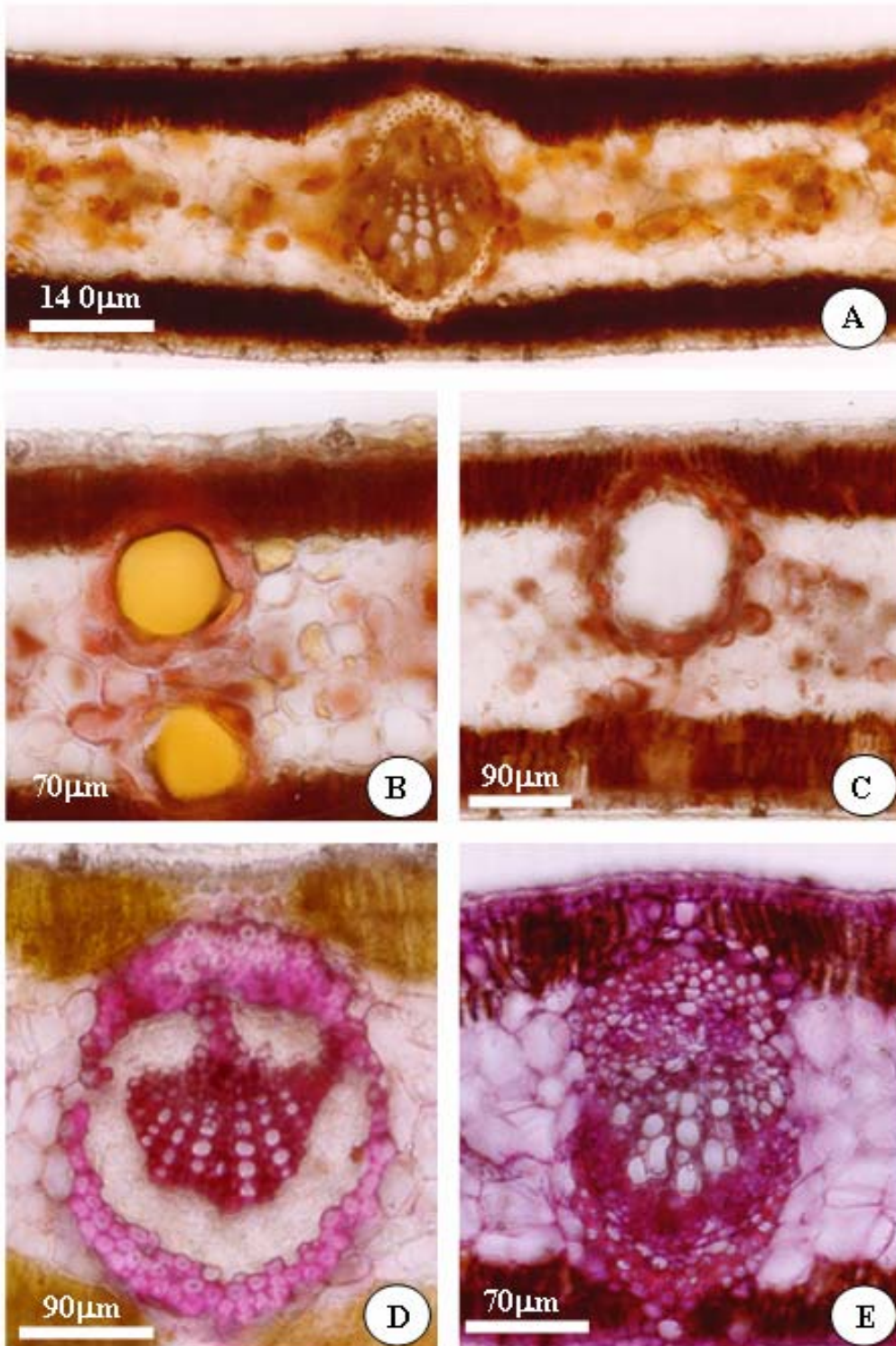


Figura 3. A: cortes de *M. leucadendra* submetidos ao Dicromato de Potássio. B-C: cortes submetidos à Vanilina Clorídrica. B: *M. quinquenervia*. C: *M. leucadendra*. D: cortes de *M. quinquenervia* submetidos ao Floroglucinol. E: cortes de *M. leucadendra* submetidos ao Vermelho de Rutênio.

A ocorrência de compostos fenólicos na família Myrtaceae é relatada em outros estudos. Compostos fenólicos foram identificados no extrato aquoso de doze espécies desta família (Siani et al., 1988), bem como de compostos taníferos no mesofilo de *Psidium widgrenianum* (Donato e Morretes, 2005). Os compostos fenólicos são apontados como tendo atividade alelopática (Rice, 1984) e antioxidante, podendo desempenhar relevante papel na absorção e neutralização de radicais livres, quelando o oxigênio triplete e simplete ou decompondo peróxidos (Brenna e Pagliarini, 2001; Zheng e Wang, 2001). Como as espécies de *Melaleuca* se destacam por sua alta capacidade de tolerância a estresses ambientais, desde solos alagados à secos e ácidos (Doram e Gum, 1994; Boland et al., 1984; Lee, et al., 2002) pode-se inferir que estas substâncias poderiam exercer importante papel de proteção das folhas contra espécies reativas de oxigênio provenientes de estresse.

A presença de compostos lipofílicos no lume das cavidades secretoras, e hidrofílicos nos parênquimas lacunoso e paliçádico e nas células epiteliais das cavidades secretoras de *M. quinquenervia* e *M. leucadendra*, indicam a complexidade da secreção produzida pelas espécies e confirmam seu potencial farmacológico. Embora os testes para a detecção de fenóis em luz visível tenham dado resultados negativos em *M. alternifolia*, não se pode concluir, de modo absoluto, que esses compostos não existam no secretado. Os testes para compostos fenólicos são de um modo geral pouco específicos, havendo compostos que, devido à sua grande capacidade de se ligar a outros compostos, não são, na maioria das vezes, detectáveis senão em microscopia de fluorescência em luz ultravioleta (Sant'Anna-Santos et al., 2006). Não foram detectados alcalóides, substâncias pécticas, polissacarídeos e proteínas como conteúdo do secretado.

Não foi evidenciada a presença de alcalóides no mesofilo foliar das três espécies estudadas. Segundo Gottlieb e Salatino (1987) plantas que produzem óleos essenciais não produzem alcalóides e vice-versa. Como ambos são produtos do metabolismo secundário que visam a defesa contra herbivoria, e levando-se em conta que alcalóides e óleos essenciais possuem rotas metabólicas distintas, não havendo compartilhamento de enzimas nestas rotas (Ruiz, 2002; Mann, 1984), pode-se supor que seria muito dispendioso para a planta sintetizar duas substâncias com a mesma função, fato que poderia explicar as afirmações feitas por estes autores. O estudo dos constituintes químicos do caule e casca de *M. alternifolia* revelou a presença de triterpenos

pentacíclicos, mas nenhum alcalóide foi encontrado (Viera et al, 2004). Estes resultados somados aos resultados dos testes histoquímicos obtidos da folha indicam a provável ausência de produção de alcalóides em *M. alternifolia*.

A Tabela 3.4 reúne os resultados encontrados para outras estruturas do mesofilo. Os demais testes histoquímicos aplicados não apresentaram resultado positivo para o secretado e células do epitélio das estruturas secretoras.

Tabela 3.4. Caracterização histoquímica do mesofilo foliar de *M. alternifolia* (MAL), *M. leucadendra* (MLD) e *M. quinquenervia* (MQQ).

Grupo de Compostos	Teste	Cutícula			Parede Celular			Parenq. Paliçádico			Parenq. Lacunoso			Cloroplastos		
		MAL	MLD	MQQ	MAL	MLD	MQQ	MAL	MLD	MQQ	MAL	MLD	MQQ	MAL	MLD	MQQ
Lipídios	Sudam Escarlate	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Azul do Nilo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Acetato de Cobre/ Ácido Rubeânico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Terpenóides	Reagente de Nadi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tricloreto de Antimônio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ácido Sulfúrico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2,4-Dinitrofenolhidrazina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Compostos Fenólicos	Dicromato de Potássio	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
	Vanilina Clorídrica	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
	Floroglucinol	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polissacarídeos Neutros	PAS	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Lugol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	Vermelho de Rutênio	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ácido Tânico / Cloreto de Ferro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteínas Totais	Xilidene de Ponceau	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+

4 – CONCLUSÕES

O sistema secretor das folhas das três espécies estudadas é constituído por numerosas cavidades próximas à epiderme e na interface entre parênquima paliçádico e lacunoso. Estas cavidades em secção transversal apresentam lume circular delimitado por epitélio secretor.

Os testes histoquímicos revelaram a presença de terpenóides e substâncias lipofílicas no secretado das três espécies além de esteróides no secretado de *M. alternifolia* e *M. quinquenervia*, indicando que as substâncias aí liberadas têm composição química heterogênea. Os resultados dos testes histoquímicos estão em consonância com a composição química dos óleos essenciais obtidos por CG e CG-MS.

A reação positiva à vanilina clorídrica e ao dicromato de potássio nas células do parênquima lacunoso e paliçádico e no epitélio secretor das cavidades indica serem estes os prováveis sítios de síntese e acúmulo destas substâncias de natureza fenólica em *M. quinquenervia* e *M. leucadendra*.

A presença de compostos lipofílicos no lume das cavidades secretoras, e hidrofílicas nos parênquimas lacunoso e paliçádico e nas células epiteliais das cavidades secretoras de *M. quinquenervia* e *M. leucadendra*, indicam a complexidade da secreção produzida pelas espécies e confirmam seu potencial farmacológico.

Não foi evidenciada a presença de alcalóides no mesofilo foliar das três espécies estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ascensão L, Francisco A, Cotrim H, Pais MS. 2005.** Comparative structure of the labellum in *Ophrys fusca* and *O. lutea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*. **92**: 1059-1067.
- Ascensão L, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Schripsema J, Deans SG, Scheffer, JJC. 1998.** *Plectranthus madagascariensis*: Morphology of the Glandular Trichomes, Essential Oil Composition, and Its Biological Activity. *International Journal of Plant Sciences* **159**: 31.
- Ascensão L, Pais MS. 1988.** Ultrastructure and histochemistry of secretory ducts in *Artemisia campestris* ssp. *maritima* (Compositae). *Nordic Journal of Botany*. **8**: 283-292.
- Barbosa LCA. 2004.** *Química orgânica: uma introdução para as ciências agrárias e biológicas*. Viçosa: UFV.
- Bentley B, Elias T. 1983.** *The biology of nectaries*. New York. Columbia University Press.
- Boland DJ, Brooker MIH, Chippendale GM, Hall N, Hyland BPM, Johnston RD, Kleinig DA, Turner JD. 1984.** *Forest Trees of Australia* Melbourne: CSIRO Publications.
- Brenna OV, Pagliarini E. 2001.** Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **49**: 4841-4844.
- Cain AJ. 1947.** The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science* **88**: 383-392.
- Carson CF, Hammer KA, Riley TV. 2006.** *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews* **19**: 50-62.
- Castro MM, Machado SR. 2003.** Células e tecidos secretores. In: Appezzato-da-Glória B, Carmello-Guerreiro SM. (Editoras). *Anatomia Vegetal*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 179-188.
- Castro MM, Leitão FHF, Monteiro WR. 1997.** Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* **20**:163-174.
- Castro, MM. 1987.** Estruturas secretoras em folhas de espécies da família Asteraceae: aspectos estruturais e histoquímicos. São Paulo, 252 p. *Tese- Doutorado* - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

Cronquist A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants.* Columbia University: New York.

Cruz AVM, Kaplan MAC. 2004. Estudo Comparativo do Perfil Químico e do Uso Popular de Espécies das Famílias Myrtaceae e Melastomataceae. *XXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares.* Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense.

David R, Carde JP. 1964. Coloration différentielle dès inclusions lipidique et terpeniques dès pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires dès Séances de l' Academie dès Sciences Paris, Série D* **258**: 1338-1340.

Fahn A. 1979. *Secretory tissues in plants.* London, Academic Press.

Fahn A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytology* **108**: 229-257.

Ferrarese L, Uccello A, Zani F, Ghirardini A. 2006. Properties of *Melaleuca alternifolia* Cheel: antimicrobial activity and phytocosmetic application. *Cosmetic News* **29**:16-20.

Donato AM, Morretes BL. 2005. Anatomical study of *Psidium widgrenianum* Berg. leaves (Myrtaceae), a potential medicine specie. *Revista Brasileira de Farmácia* **86**: 65-70.

Gabe M. 1968. *Techniques histologiques.* Paris, Masson e Cie.

Geissman TA, Griffin TS. 1971. Sesquiterpene lactones: acid-catalyzed color reactions as an aid in structure determination. *Phytochemistry* **10**: 2475-2485.

Gentry AH. 1993. *A field guide to the families and genera of woody plants of Northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru), with supplementary notes on herbaceous taxa.* Conservation International, Washington, D.C., USA.

Gottlieb OR, Salatino A. 1987. Função e evolução de óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. *Ciência e Cultura* **39**: 707-716.

Giordani C, Molinari A, Toccaceli L, Calcabrini A, Stringaro A, Chistolini P, Arancia G, Diociaiuti M. 2006. Interaction of Tea Tree Oil with Model and Cellular Membranes. *Journal of Medical Chemistry* **49**: 4581-4588.

Gershenzon J, Maffei M, Croteau R. 1989. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of spearmint (*Mentha spicata*). *Plant Physiology* **89**: 1351-1357.

Ghisalberti EL. 1996. Bioactive acylphloroglucinol derivatives from *Eucalyptus* species. *Phytochemistry* **41**: 7-22.

- Hardman R, Sofowora EA. 1972.** Antimony trichloride as test reagents for steroids, especially diosgenin and yamogenin, in plant tissues. *Stain Technology* 47: 205-208.
- Haword L. 1999.** *Tea tree–Genus Melaleuca*. Academic Publishers, The Netherlands.
- Lassak EV, McCarthy T. 1983.** *Australian Medicinal Plants*, Methuen, Sydney.
- Kalachanis D, Psaras GK. 2005.** Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves. *Biologia Plantarum* 49: 105-110.
- Kapoor LD. 1990.** *Handbook of ayuverdic medicinal plants*. Boca Raton: CRC.
- Keating RC. 1984.** Leaf histology and its contribution to relationships in the Myrtales. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 71: 801-823.
- Lee LS, Brooks LO, Homer LE, Rossetto M, Henry RJ, Baverstock PR. 2002.** Geographic variation in the essential oils and morphology of natural populations of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 30: 343-360.
- Lee C-K. 1999.** Leucadenone A-D, the novel class flavanone from the leaves of *Melaleuca leucadendron* L. *Tetrahedron Lettes* 40: 7255-7259.
- List S, Brown PH, Walsh KB. 1995.** Functional anatomy of the oil glands of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany* 43: 629-641.
- Mann J. 1987.** *Secondary Metabolism*. 2nd ed, Clarendon Press, Oxford,
- Mace ME, Howell CR. 1974.** Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. *Phytopathology* 64: 1297-1302.
- Metcalf CR, Chalk L. 1950.** *Anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon, Oxford.
- Metcalf CR, Chalk L. 1983.** *Anatomy of the Dicotyledons: Wood Structure and Conclusion of the General Introduction*. v.2. New York, Oxford University Press.
- Metcalf CR, Chalk L 1988.** *Anatomy of the Dicotyledons*. 2 ed. Clarendon, Oxford.
- Metcalf CR, Chalk L. 1989.** *Anatomy of the dicotyledons*. 2ed. Oxford: Oxford University Press.
- Neira Gonzalez AM, Ramirez Gonzalez MB, Sanchez Pinto NL 2005.** Phytochemical study and antibacterial activity of *Psidium guineense* Sw (choba) against *Streptococcus mutans*, causal agent of dental caries. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 10: 3.
- Okuda T, Yoshida T, Hatano T, Yazaki K, Ikegami Y, Shingu T. 1987.** Guavins A, C and D, complex tannins from *Psidium guajava*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 35: 443-446.

Palhares D. 2003. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae Jussieu). *Revista Lecta* **21**: 29-36.

Patitucci ML, Veiga Jr VF, Pinto AC, Zoghbi MGB, Silva JRA. 1995. Utilização de cromatografia gasosa de alta resolução na detecção de classe de terpenos em extratos brutos vegetais. *Química Nova* **18**: 262-266.

Paula JAM, Bara MTF, Rezende MH, Ferreira HD, Paula JR. 2005. Estudo Farmacognóstico das folhas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum – Myrtaceae. *Revista Eletrônica de Farmácia Suplemento 2*: 153-156.

Rice EL. 1984. *Allelopathy*, 2 ed. Academic Press, Orlando.

Rodriguez E, Healey PL, Mehta I. 1984. *Biology and chemistry of plant trichomes*. New York, Plenum.

Roshina VV, Roshina VD. 1993. *The secretory function of higher plants*. Springer-Verlag, New York.

Ruiz PG. 2002. *Productos naturales*. Universidad Pública de Navarra.

Seligmann O, Wagner H. 1981. Structure determination of melanervin, the first naturally occurring flavonoid of the triphenylmethane family. *Tetrahedron* **37**: 2601-2606.

Sant'Anna-Santos BF, Thadeo M, Meira RMSA, Ascensão L. 2006. Anatomia e Histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* forst. F. (Anacardiaceae) *Revista Árvore* **30**: 481-489.

Siani AC, Sampaio ALF, Sousa MC, Henriques MGMO, Ramos MFSR. 2000. Óleos essenciais. Potencial antiinflamatório. *Biotecnologia. Ciência e Desenvolvimento* p.38-43.

Silva SRS, Demuner AJ, Barbosa LC, Andrade NJ, Nascimento EA, Pinheiro AL. 2003. Análise dos Constituintes Químicos e da atividade antimicrobiana de *Melaleuca alternifolia* Cheel. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **6**: 63-70

Solereeder H. 1908. *Systematic anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford.

Vieira TR, Barbosa LCA, Maltha CRA, Paula VF, Nascimento EA. 2004. Chemical constituents from *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Química Nova* **27**: 536-539.

Vieira RC, Delprete PG, Leitão GG, Leitão SG. 2001. Anatomical and chemical analyses of leaf secretory cavities of *Rustia formosa* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* **88**: 2151-2156.

West WC. 1969. Ontogeny of oil cells in the woody Ranales. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **96**: 329-344.

Yoshida T, Maruyama T, Nitra A, Okuda T. 1996. An hydrolysable tannin and accompanying polyphenols From *Melaleuca leucadendron*. *Phytochemistry* **42**:1171-1173.

Zheng W, Wang SY 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **49**: 5165-5170.

CONCLUSÕES GERAIS

A análise dos dados obtidos nos trabalhos realizados permite concluir que:

1. As espécies de *Melaleuca* apresentaram padrões diferenciados de composição química do óleo essencial sendo que os componentes majoritários dos óleos essenciais foram: terpinen-4-ol (53,7% em *M. alternifolia*), 1,8-cineol (80,2% em *M. armillaris*, 79,5% em *M. ericifolia*, 43,7% em *M. cajuputi* subespécie *cajuputi*, 41,0% em *M. cajuputi* subespécie *platyhylla*), viridiflorol (71,0% em *M. quinquenervia*) e metil eugenol (96,9% em *M. leucadendra*).

2. Os óleos essenciais de *M. quinquenervia* e *M. leucadendra* consistem em quimiótipos ricos em viridiflorol e metil eugenol, respectivamente.

4. A avaliação morfológica e anatômica das sete espécies revelou a presença de caracteres de ocorrência comum na família Myrtaceae.

5. Alguns dos caracteres anatômicos observados como tipo de estômato e organização do pecíolo, podem contribuir para caracterização do gênero *Melaleuca*.

6. Caracteres xeromórficos foram identificados em todas as espécies bem como a presença de estruturas semelhantes a lenticelas nas folhas das espécies pecioladas. Entretanto, é necessária a análise de espécimes de *Melaleuca* ocorrentes em seu ambiente natural e em outros locais de solo seco para se estabelecer correlação de tais características a fatores genéticos e/ou ambientais.

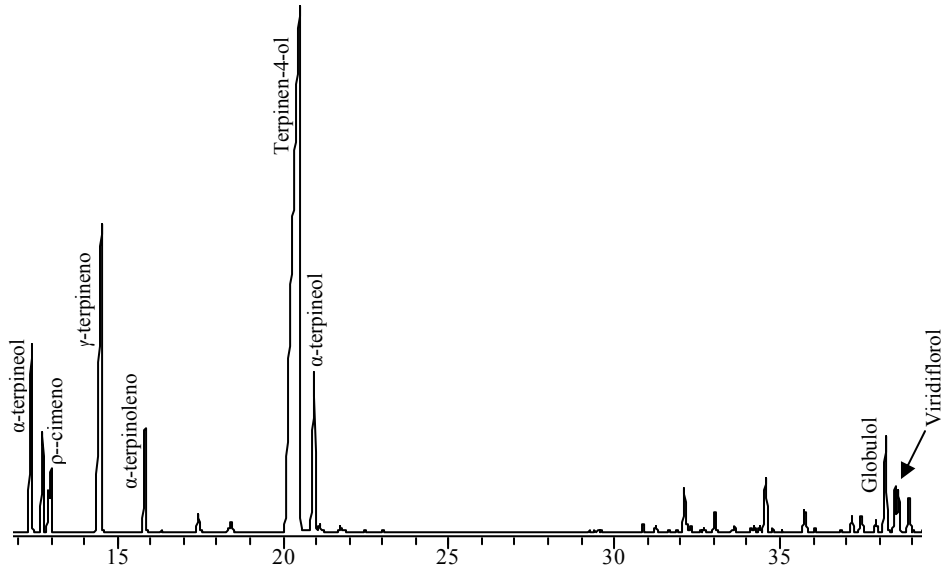
7. Os estudos de histolocalização revelaram serem as cavidades secretoras os sítios de produção e acúmulo dos óleos essenciais.

8. A presença de compostos fenólicos nas células do parênquima lacunoso e do epitélio secretor dos canais indica serem estes os prováveis sítios de produção e acúmulo destes compostos.

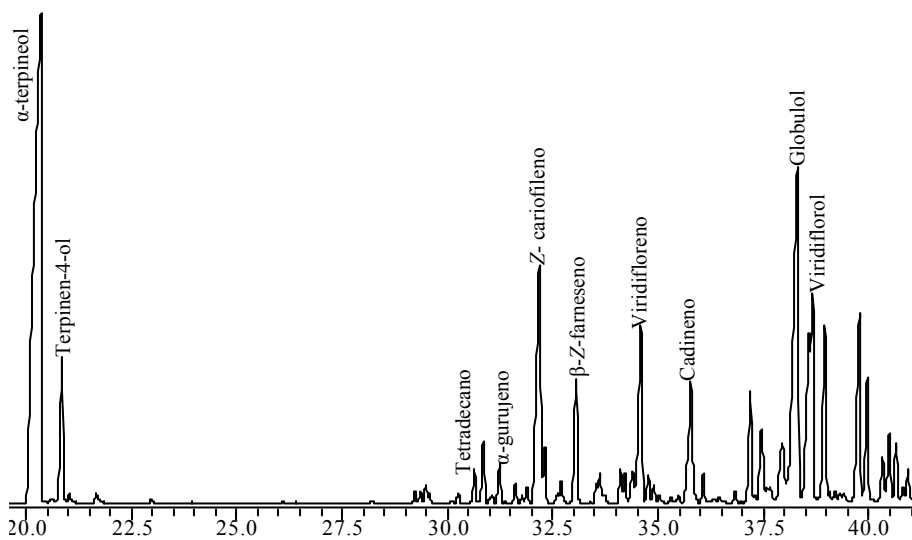
ANEXOS

1 – CROMATOGRAMAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS E CAULE DAS ESPÉCIES DE MELALEUCA ESTUDADAS

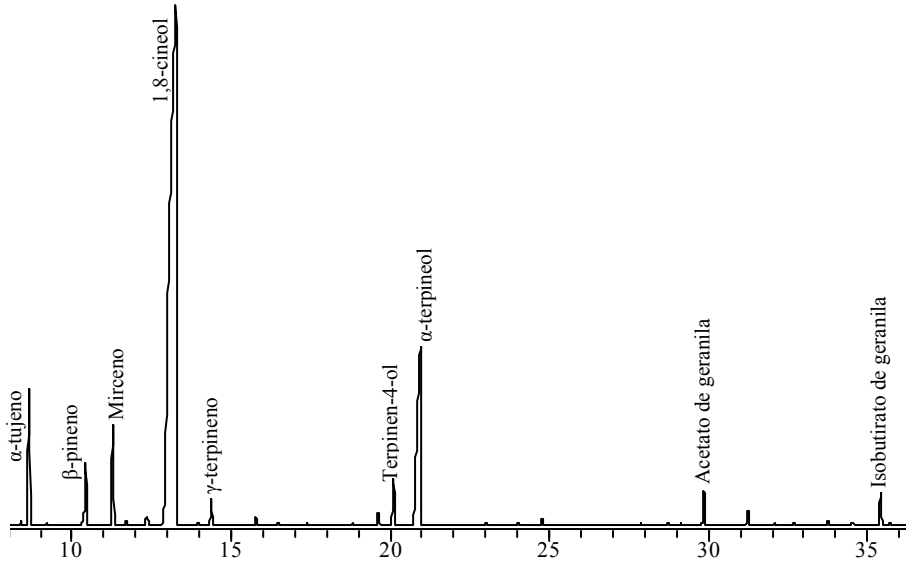
Melaleuca alternifolia - Folha



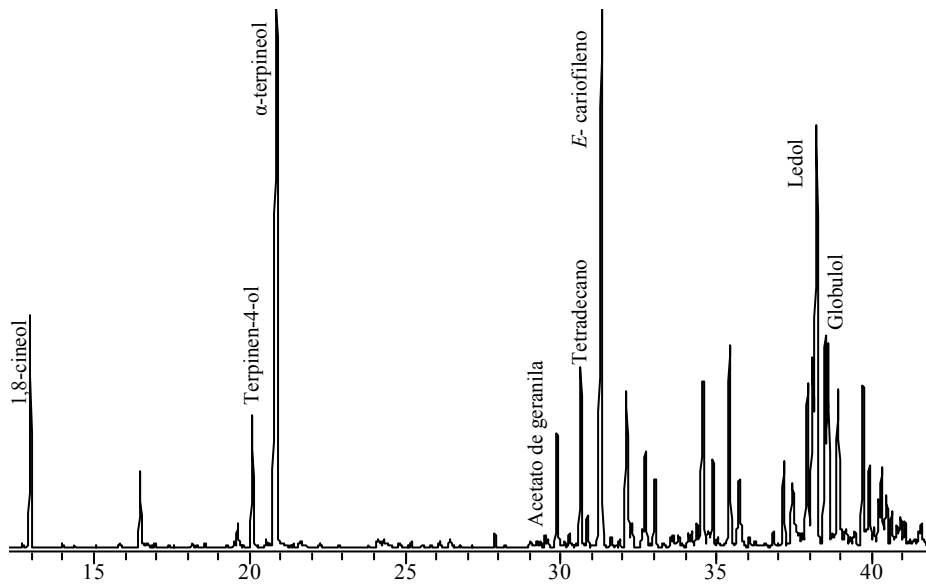
Melaleuca alternifolia - Caule



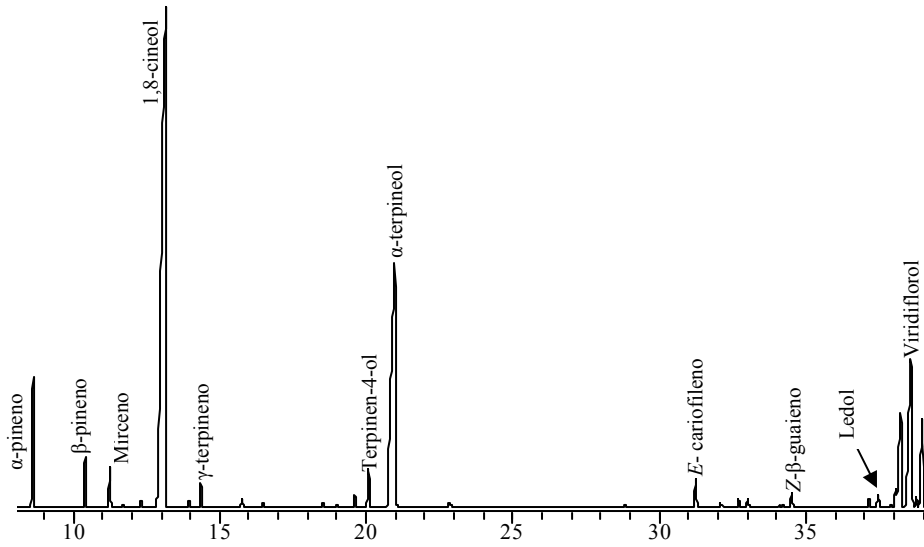
***Melaleuca armillaris* – Folha**



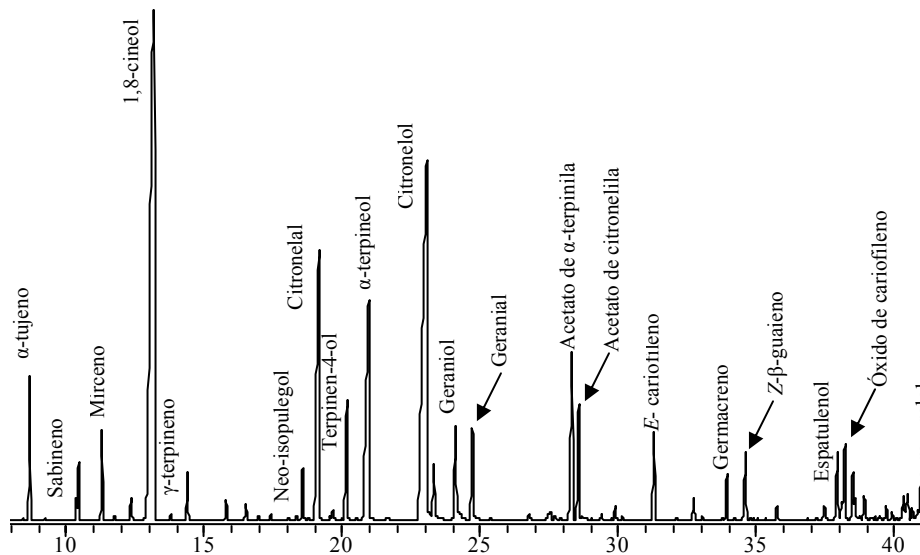
***Melaleuca armillaris* - Caule**



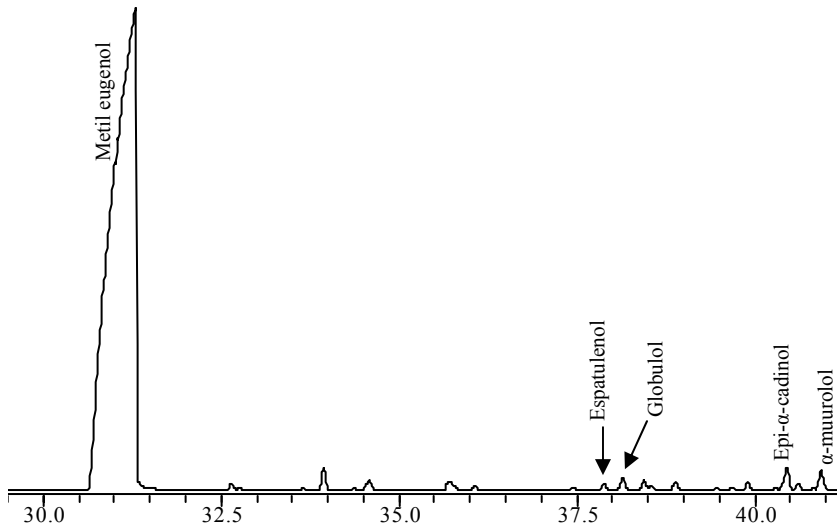
Melaleuca cajuputi* subespécie *cajuputi



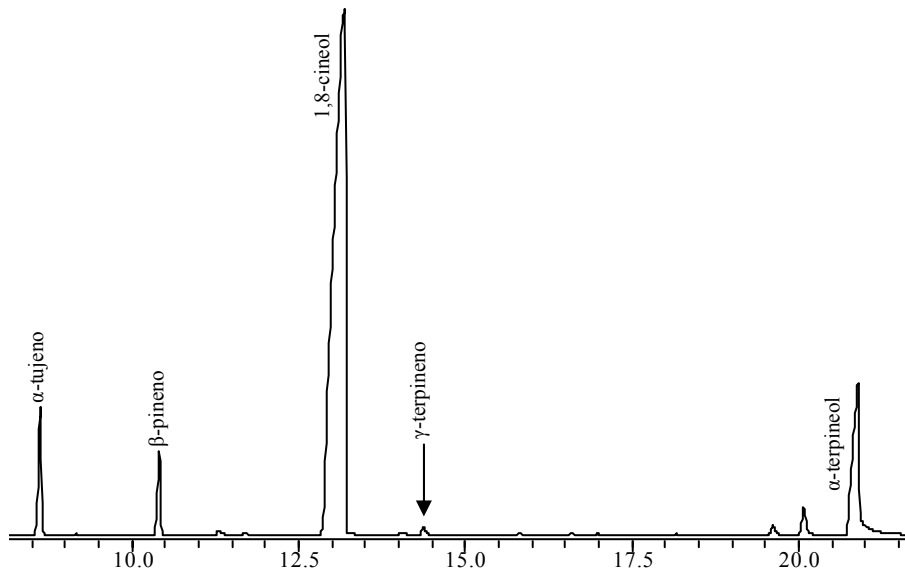
Melaleuca* subespécie *platyphylla



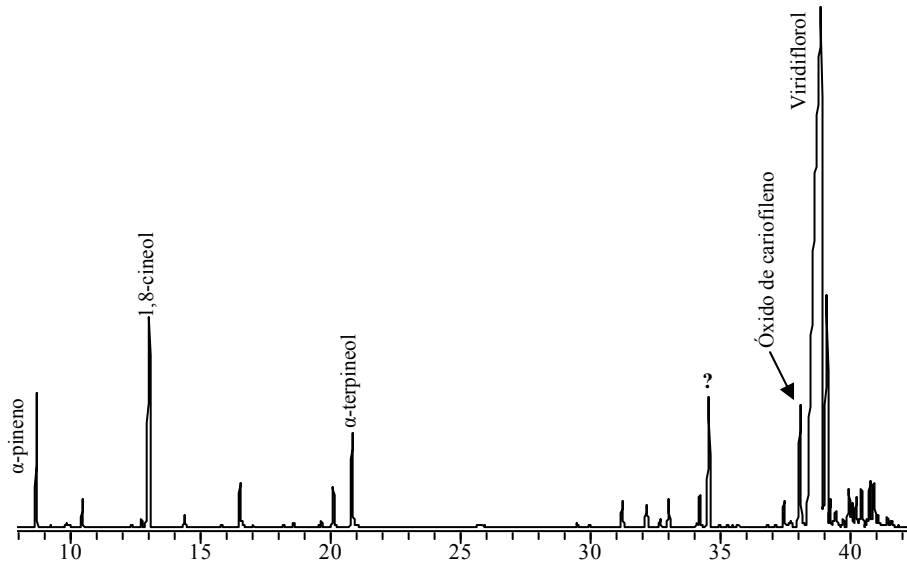
Melaleuca leucadendra



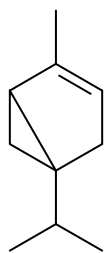
Melaleuca ericifolia



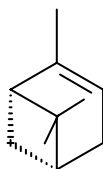
Melaleuca quinquenervia



2. Fórmulas estruturais de alguns compostos identificados nos óleos essenciais das espécies de *Melaleuca*



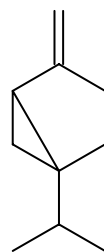
α -tujeno



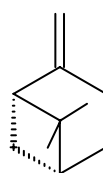
α -pineno



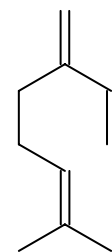
Canfeno



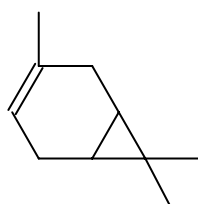
Sabineno



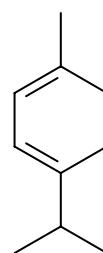
β -pineno



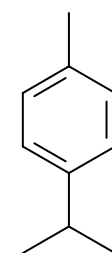
Mirceno



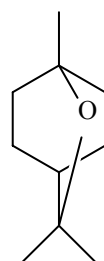
δ - careno



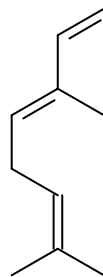
Terpineno



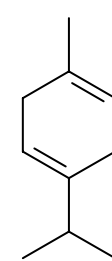
p -Cimeno



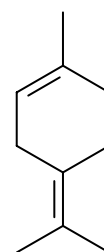
1,8-cineol



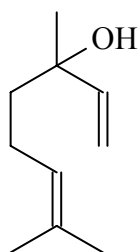
β -*E*-ocimeno



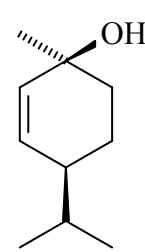
γ -Terpineno



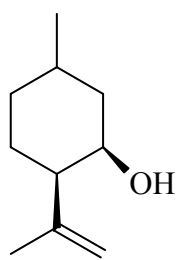
Terpinoleno



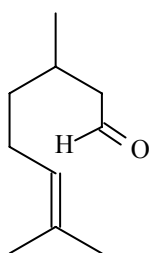
Linalol



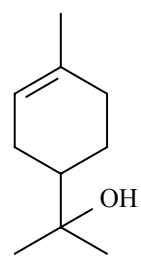
Cis-p-ment-2-en-1-ol



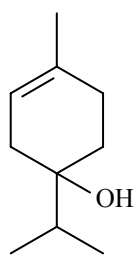
Neo-isopulegol



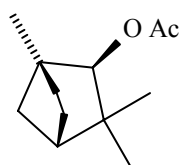
Citronelal



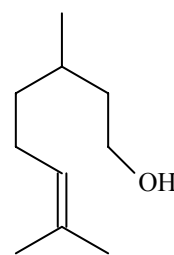
α -terpineol



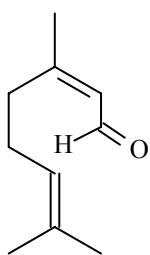
Terpinen-4-ol



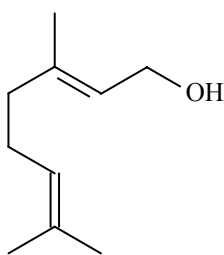
Acetato de Endo-fenchila



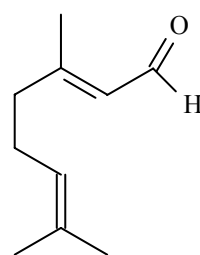
Citronelol



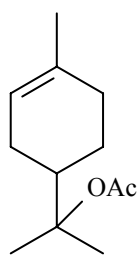
Neral



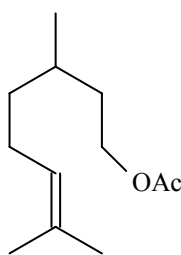
Geraniol



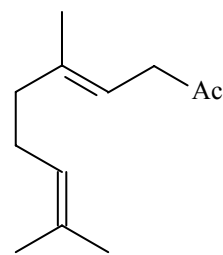
Geranial



Acetato de α -terpinila



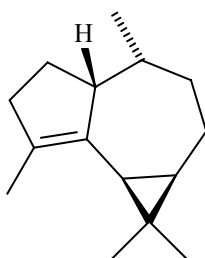
Acetato de Citronelila



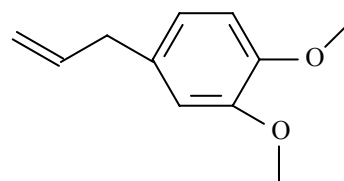
Acetato de Geranila



Tetradecano



α -gurujeno



Metil Eugenol

