



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI – MPEG**



**ESTUDO MORFOANATÔMICO DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS AÉREOS DE
Vitex agnus-castus L. (VERBENACEAE)**

ZÉLIA VALENTE BRAGA

**Belém-PA
2010**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI – MPEG



ESTUDO MORFOANATÔMICO DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS AÉREOS DE
Vitex agnus-castus L. (VERBENACEAE)

ZÉLIA VALENTE BRAGA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica Tropical da Universidade Federal Rural da Amazônia e do Museu Paraense Emílio Goeldi, como um dos requisitos para obtenção do título de **MESTRE**

Prof^ª. D. Sc. Raimunda Conceição de Vilhena Potiguara
Orientadora

Belém-PA
2010



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI – MPEG



ESTUDO MORFOANATÔMICO DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS AÉREOS DE

Vitex agnus-castus L. (VERBENACEAE)

ZÉLIA VALENTE BRAGA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica Tropical da Universidade Federal Rural da Amazônia e do Museu Paraense Emílio Goeldi, como um dos requisitos para obtenção do título de **MESTRE**.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. D. Sc. Raimunda Conceição de Vilhena Potiguara
Museu Paraense Emílio Goeldi- MPEG

Prof^a. D. Sc. Fernanda Ilkiu Borges de Souza- 1^a Examinadora
Embrapa Amazônia Oriental- CPATU

Prof^a. D. Sc. Ana Cristina Andrade Aguiar Dias- 2^a Examinadora
Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA

Prof. D. Sc. Marco Antônio de Menezes Neto- 3^o Examinador
Universidade Federal do Pará- UFPA

Prof^a. D. Sc. Maria das Graças Bichara Zogbhi- Suplente
Museu Paraense Emílio Goeldi- MPEG

Belém-PA
2010

Para Regina, Danielle e Francisco, únicos seres a quem me exponho 'morfoanatomicamente'.

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar meu profundo agradecimento a todos que tornaram possível a realização desse trabalho:

À Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA e ao Museu Paraense Emílio Goeldi- MPEG.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq.

À Prof^a. D. Sc. Raimunda Conceição de Vilhena Potiguara, pela orientação.

À Prof^a. D. Sc. Ana Cristina Aguiar, pelo estímulo, críticas e sugestões.

Ao Prof. D. Sc. Marco Antônio Menezes Neto, pela avaliação pré-banca.

Ao M. Sc. Rolf Júnior, pela obtenção das imagens em MEV, correção e sugestões.

Ao M. Sc. Pedro Glécio Lima, pela realização dos desenhos ilustrativos.

À M. Sc. Gabrielle Monteiro, pela obtenção do mapa de localização e pelas boas energias compartilhadas ao longo dos anos.

À M. Sc. Tatiani Kikuchi, que não mediu esforços para me apoiar, seja corrigindo de forma rápida e carinhosa os textos que lhe enviava, seja me ouvindo e aconselhando, sem jamais perder a ética e o respeito por seus colegas de trabalho, despertando assim, minha profunda admiração.

Às companheiras de laboratório Kelly Moutinho, Carla Feio, Suelen Mata e Tarcymara Barata, com as quais vivi momentos de aprendizagem e descontração.

Aos amigos Alexandre Mesquita, Alessandra Cunha, Bernardo Maués, Ronize Santos e Elivane Leite sem os quais a vida não teria nenhuma graça.

À Dagmar Mariano, Patrícia Barroso, Dona Raimunda e Joy pela disponibilidade e atenção.

E a todos que direta e indiretamente fizeram parte da minha vida durante esses anos de estudo.

SUMÁRIO

ESTUDO MORFOANATÔMICO DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS AÉREOS DE <i>Vitex agnus-castus</i> L. (VERBENACEAE)	11
RESUMO	11
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Classificação Taxônomica (Cronquist, 1981)	16
2.2. Família Verbenaceae Juss.	16
2.3. Gênero <i>Vitex</i> L.	17
2.4. Espécie <i>Vitex agnus-castus</i> L.	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. Área de coleta	21
3.2. Material botânico	21
3.3. Padrões de descrição	22
3.4. Análise anatômica	22
3.4.1. Fixação	24
3.4.2. Dissociação de epidermes	25
3.4.3. Secções histológicas	25
A. Secções feitas à mão	25
B. Secções feitas em micrótomo rotativo	26
C. Secções feitas em micrótomo de deslize.....	26
3.4.4. Maceração	26
3.4.5. Contagens e Mensurações	27
3.4.6. Ilustrações.....	27
A. Fotografias e Fotomicrografias	27
B. Eletromicrografia	27
4. RESULTADOS	28
4.1. Descrição morfológica dos órgãos vegetativos aéreos de <i>Vitex agnus-castus</i> L.	28
4.2. Descrição anatômica dos órgãos vegetativos aéreos de <i>Vitex agnus-castus</i> L.	28
4.2.1. Epiderme foliolar.....	28
4.2.2. Tricomas.....	30
4.2.2.1. Descrição dos Tricomas.....	31
4.2.2.2. Distribuição dos Tricomas.....	35
4.2.3. Mesofilo e Nervura Principal	40
4.2.4. Pecíolo e Pulvino.....	44
4.2.5. Peciólulo e Pulvínulo	44
4.2.6. Caule.....	47
4.2.6.1. Herbáceo	47
4.2.6.2. Lenho	47
5. DISCUSSÃO	52
7. REFERÊNCIAS	60

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Localização geográfica da área de coleta 21
- Figura 2:** Imagens dos pontos de retirada de amostras em *Vitex agnus-castus* L. **A:** Vista geral da espécie. **B:** Ramo foliar com destaque para os nós e entrenós utilizados. **C:** Detalhe do primeiro entrenó. **D:** Ponto de retirada do lenho. **Barras:** **A:** 80 cm. **B:** 5 cm. **C:** 0,5 cm. **D:** 50 cm. **EN-** Entrenó. 23
- Figura 3:** Representação esquemática das áreas seccionadas em caule e folha de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Porção mediana do entrenó/caule. **B:** Detalhe evidenciando o pulvino. **C:** Folha com destaque para o folíolo seccionado em diferentes regiões. **Barras:** **A:** 8 cm. **B:** 0,5 cm. **C:** 1 cm. **Ap-** Ápice, **Ba-** Base, **Ca-** Caule, **Me-** Meio, **Mg-** Margem, **Np-** Nervura principal, **Pc-** Pecíolo, **Pl-** Peciólulo, **Pv-** Pulvino, **Ri-** Região intermediária..... 24
- Figura 4:** Imagens dos aspectos morfológicos de *Vitex agnus-castus* L.: **A:** Ramificação simpodial. **B:** Filotaxia oposto-cruzada. **C:** Inserção central do pecíolo. **D:** Pilosidade do pecíolo. **E:** Pulvino. **F:** Gemas. **G-H:** Folha. **G:** Face adaxial. **H:** Face abaxial. **I:** Folíolo lanceolado com destaque para a nervura principal e peciólulo. **J:** Ápice foliolar agudo. **L:-** Base assimétrica. **M:** Venação bronquidródoma. **Barras:** **B:** 8 cm. **C, E, G, H:** 1 cm. **I:** 0,3 cm. **Ap-** Ápice, **Ba-** Base, **EN-** Entrenó, **Np-** Nervura Principal, **Pv-** Pulvino, **Pl-** Peciólulo..... 29
- Figura 5:** Fotomicrografias da epiderme foliolar de *Vitex agnus-castus* L.: **A-** Vista geral das faces do limbo em secção transversal. **B-D:** Vista frontal das faces do limbo. **B:** Face adaxial. **C:** Face abaxial. **D:** Células epidérmicas em vista frontal. **E:** Célula epidérmica em secção transversal. **F-G:** Estômatos anomocíticos. **Barras:** **A:** 150 μ m. **B:** 80 μ m. **C:** 100 μ m. **D-E:** 40 μ m. **G:** 30 μ m. **Ad-** Adaxial, **Ab-** Abaxial. 30
- Figura 6:** Eletromicrografia dos tipos de tricomas tectores presentes na superfície dos órgãos vegetativos aéreos de *Vitex agnus-castus* L. **A-B:** Tipo I. **C- E:** Tipo II. **Setas-** células basais. **F:** Tipo III. **Círculo-** projeção angular..... 32
- Figura 7:** Eletromicrografia dos tipos de tricomas glandulares presentes na superfície dos órgãos vegetativos aéreos de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Tipo IV. **B- C:** Tipo V. **D:** Tipo VI. **E:** Tipo VII. **F:** Tipo VIII. **G:** Tipo IX. **H:** Tipo X. 33
- Figura 8:** Fotomicrografia das secções transversais dos tipos de tricomas presentes na superfícies caulinares e foliares de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Tipo I- seta menor, Tipo V- seta maior. **B:** Tipo VII. **C:** Tipo VIII. **D:** Tipo IX em estágio secretor inicial. **E- F:** Tipo IX em estágio secretor com cutícula distendida. **F:** Tipo X com cutícula distendida. **Barras:** **A:** 60 μ m. **B-F:** 40 μ m. **G:** 30 μ m.34
- Figura 9:** Eletromicrografia das superfícies foliares de *Vitex agnus-castus* L. **A-B:** Limbo foliolar. **A:** Face adaxial. **B:** Face abaxial. **C-F:** Imagens equivalentes do pecíolo e peciólulo. **C:** 3° Nó. **D:** 4° Nó. **E:** 5° Nó. **F:** 9° Nó. 37
- Figura 10:** Eletromicrografia das superfícies caulinares de *Vitex agnus-castus* L. **A:** 4° Entrenó. **B:** 5° Entrenó. **C:** 6° Entrenó. **D:** 7° Entrenó. **E:** 8° Entrenó. **F:** 9° Entrenó. 38
- Figura 11:** Eletromicrografia dos tipos de tricomas glandulares de *Vitex agnus-castus* L. em diferentes estágios de desenvolvimento. **A- B:** Tricoma capitado do tipo V. **A:** Estágio pré-secretor,

seta. **B:** Estágio secretor, seta- detalhe da distensão da cutícula. **C-F:** Tricoma peltado do tipo IX. **C:** Estágio pré-secretor. **D- E:** Estágio secretor. **F:** Estágio pós-secretor, seta- detalhe da cutícula rompida. 39

Figura 12: Fotomicrografias das secções transversais do limbo foliolar de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Mesofilo dorsiventral, seta menor- epiderme, seta maior- extrato de células localizadas abaixo da epiderme. **B:** Nervura secundária com extensão de bainha. **C:** Margem foliolar. **D:** Detalhe do feixe vascular da margem. **Barras:** **A:** 150 µm, **B:** 80 µm. **C:** 40 µm. **D:** 20 µm. **Cl-** colênquima, **EB-** Extensão de bainha, **Fb-** Fibras. **Fl-** Floema, **FV-** Feixe vascular **PP-** Parênquima paliçádico, **PL-** Parênquima Lacunoso, **XI-** Xilema. 41

Figura 13: Fotomicrografias das secções transversais em diferentes regiões da nervura principal do folíolo de *Vitex agnus-castus* L.: **A-B:** Região apical. **C-D:** Região mediana. **E-F:** Região basal. **Barras:** **A, C, E:** 200 µm. **B, D, F:** 40 µm. **Ctx-** Córtex, **Fb-** Fibras, **Fl-** Floema, **XI-** Xilema. 42

Figura 14: Fotomicrografias dos elementos celulares encontrados em macerado da nervura principal do folíolo de *Vitex agnus-castus* L.: **A:** Fibra. **B- D:** Elemento de vaso. **B:** Parede secundária helicoidal. **C-** Parede secundária pontoadada. **D-** detalhe das pontoações elípticas. **Barras:** 300 µm. . 43

Figura 15: Fotomicrografias das secções transversais e longitudinais do pecíolo e pulvino de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Pecíolo. **B:** Pulvino. **C:** Células epidêmicas, seguido de colênquima. **D:** Organização dos tecidos em vista longitudinal. **E:** Espessamentos parietais do xilema. **F- G:** Fibras espessadas. **H- I:** Grãos de amido dispostos nas camadas de células mais internas do córtex. **J:** Medula- destaque para os espaços intercelulares- seta. **L-N:** Traços foliares. **L:** Região apical do pecíolo. **M:** Região mediana do pecíolo. **N:** Região do pulvino. **Barras:** **A-B:** 300 µm. **C, E:** 40 µm. **D, I:** 80 µm. **E, F, G, H, J:** 30 µm. **L-N:** 30 µm. **Ctx-** córtex, **Fb-** Fibras, **Fl-** Floema, **M-** Medula, **XI-** Xilema. 45

Figura 16: Fotomicrografia das secções transversais do peciólulo e pulvínulo de *Vitex agnus-castus* L.: **A:** Peciólulo. **B:** Puvínulo. **C:** Feixe vascular central do peciólulo. **D:** Feixe vascular central do pulvínulo, **Barras:** **A- B:** 300 µm. **C: D:** 40 µm. **Ctx-** Córtex, **Fl-** Floema, **Fb-** Fibras, **M-** Medula, **TF-** Traço foliar, **XI-** Xilema. 46

Figura 17: Fotomicrografias das secções transversais dos entrenós caulinares de *Vitex agnus-castus* L.: **A-C:** Vista geral. **A:** 1º entrenó. **B:** 2º entrenó. **C:** 3º entrenó. **D:** Maturação centrífuga do xilema-seta. **E:** Periderme e bainha contínua de fibras em torno do feixe vascular. **F:** Fibras fragmentadas em torno do feixe vascular. **G:** Arranjo difuso do xilema. **H:** Placa de perfuração escalariforme. **Barras:** 51, 52, 53: 200 µm. 54: 40 µm. 55: 60 µm. 56: 80 µm. 57: 30 µm. 58: 20 µm **Cb-** câmbio, **Cl-** colênquima, **Ctx-** córtex, **Fb-** Fibras, **Fl-** Floema, **M-** Medula, **Pr-** Periderme. **XI-** Xilema. 49

Figura 18: Fotomicrografias das secções do lenho de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Secção transversal evidenciando o arranjo difuso dos poros solitários e a camada de crescimento pouco distinta. **B-D:** Secções longitudinal-tangencial. **B:** Pontoções intervasculares alternas. **C:** Disposição alterna dos raios. **D:** Seta superior- Fibras, Seta inferior- células heterogêneas do raio. **E-F:** Secções longitudinal-radial. **E:** Corpo do raio- seta. **F:** Detalhe das células procumbentes do raio. **Barras:** **A, C, E-** 80µm. **B:** 30 µm. **D:** 40 µm. **P-** Poro, **R-** Raio, **CC-** Camada de crescimento. 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição dos tipos de tricomas nos órgãos vegetativos aéreos de <i>Vitex agnus-castus</i> L.	35
Tabela 2: Dados quantitativos de vasos/poros da espécie <i>Vitex agnus-castus</i> L.	51
Tabela 3: Dados quantitativos das fibras da espécie <i>Vitex agnus-castus</i> L.....	51
Tabela 4: Dados quantitativos dos raios da espécie <i>Vitex agnus-castus</i> L.....	51

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

Ab- abaxial

Ad- adaxial

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Ap- Ápice

Ba- Base

BP- Bainha parenquimática

Ca- Caule

Cb- Câmbio

CC- Camada de crescimento

Cl- colênquima

Cm- centímetro

Ctx- Córtex

EB- Extensão de bainha

EN- Entrenó

FAA- Formaldeído, Álcool, Ácido Acético

FB- Fibra

Fl- Floema

FNT- Formalina Neutra Tamponada

FV- Feixe vascular

IAWA- International Association of Wood Anatomists

IBAMA- Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Renováveis

mA- Microampere

M- Molar

MA- Maranhão

Me- Meio

MEV- Microscopia Eletrônica de Varredura

Mg- Margem

Min- minuto

MPEG- Museu Paraense Emílio Goeldi

Np- Nervura principal

P- Poro

PA- Pará

Pe- Pecíolo

PE- Pernambuco

PL- Parênquima Lacunoso

Pl- Peciólulo

PP- Parênquima paliçádico

Pv- Pulvino

R- Raio

RDC- Resolução de Diretoria Colegiada

Ri- Região intermediária

ssp- espécie

Tg- Tricoma glandular

Tt- Tricoma tector

Xl- Xilema

µm- Micrômetro

ESTUDO MORFOANATÔMICO DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS AÉREOS DE *Vitex agnus-castus* L. (VERBENACEAE)

RESUMO

Vitex agnus-castus L. é utilizada popularmente e cientificamente no tratamento de distúrbios do sistema reprodutivo feminino. Por ser uma importante espécie de uso medicinal este trabalho buscou descrever a morfoanatomia de seus órgãos vegetativos aéreos. Para isso, o material coletado foi fixado em FAA₇₀, FNT e Glutaraldeído 2,5%. As amostras dos dois primeiros fixadores foram destinadas aos estudos em Microscopia óptica, através da dissociação das epidermes, maceração e secções histológicas. As amostras fixadas em Glutaraldeído foram destinadas as observações em MEV. Verificou-se que a espécie apresenta características comuns à família Verbenaceae como folhas oposito-cruzadas, compostas, pecioladas, folíolos, lanceolados, pilosos, venação bronquidródoma; hipoestomáticas; estômatos anomocíticos; mesofilo dorsiventral; extensões de bainha parenquimática; colênquima angular /anelar; caule quadrangular quando herbáceo e presença elevada de tricomas. Estes, classificados em três tipos de tectores e sete de glandulares. Sendo o tipo II o único capaz de identificar o órgão analisado. O pecíolo, peciólulo e caule demonstraram-se superiores ao limbo para a exploração dos glandulares. Em relação aos seus estágios de desenvolvimento observou-se que diferentes estágios de um mesmo tipo de tricoma podem ocorrer simultaneamente em uma mesma região. Quanto às características anatômicas das estruturas foliares, a região cortical mostra-se ampla no pulvino, pulvínulo e peciólulo e reduzida no pecíolo. O inverso ocorre na região medular, onde esta se mostra ampla no pecíolo e reduzida nas demais estruturas. Os feixes vasculares dessas estruturas são biclaterais no pecíolo, peciólulo e pulvínulo e anficrivais no pulvino. O lenho possui camadas de crescimento pouco distintas, individualizadas por zonas fibrosas transversais mais escuras; arranjo difuso; placa de perfuração simples e escalariforme; pontoações intervasculares e rádio-vasculares; fibras espessas, com células do tipo fusiforme, sem pontuações. As descrições do pulvino, peciólulo, pulvínulo e lenho são inéditas para a espécie.

Palavras-chave: Anatomia; Alecrim d'angola; Caule; Folha; Tricoma.

STUDY MORPHOANATOMY OF THE AERIAL VEGETATIVE ORGANS OF *Vitex agnus-castus* L. (VERBENACEAE)

ABSTRACT

Vitex agnus-castus L. is scientifically and popularly used in the treatment of female reproductive system disorders. Because it is an important medicinal species, this work sought to describe the morphoanatomy of its aerial vegetative organs. For this, the material collected was fixed at FAA₇₀, TNF and 2.5% glutaraldehyde. Samples of the first two fixtures were designed to studies in optical microscopy, by epidermis dissociation, maceration and histologic sections. The samples were fixed in glutaraldehyde for SEM observations. It was found that the species has characteristics common to the family Verbenaceae cross-like leaves opposite, compound, petiolate, leaflets, lanceolate, hairy, brochidodromous venation; hypostomatic; anomocytic stomata; dorsiventral mesophyll, parenchyma sheath extensions, angular collenchyma/ring; stem herbaceous and square when the elevated presence of trichomes. These were classified into three types of tector and seven of glandular. Being the type II alone can identify the organ analyzed. The petiole and stem petiolule demonstrated to be superior to the limbus for the exploration of the glandular thichome. In relation to their stages of development showed that different stages of the same type of trichomes may occur simultaneously in the same region. As for the anatomical characteristics of leaf structures, the cortical region appears to be broad in pulvinus, and pulvinule petiolule and reduced in the petiole. The opposite occurs in the medullary region, where it is shown in the petiole broad and reduced in other structures. The vascular bundles of these structures are bicollateral in the petiole, and petiolule pulvínulo amphicribal and the pulvinus. The wood has some distinct growth layers, individualized by fibrous areas darker transverse arrangement; diffuse, simple perforation plate and scalariform, intervessel pitting and radio-vascular, thick fibers with spindle cell type, without scores. The descriptions of the pulvinus, petiolule, pulvinule and wood are unknown for the species.

Keywords: Anatomy; Rosemary d'Angola; Stem; Leaf; Trichome.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui a flora mais rica do mundo, com mais de 56.000 espécies vegetais – quase 19% da flora mundial (MMA, 1998). No entanto, Dean (1989) afirmou ser comum a presença de espécies oriundas de outros países perfeitamente adaptadas as condições brasileiras. Segundo o autor, a inclusão de vegetais e animais no Brasil se deu, inicialmente, pelo fato de seus invasores não gostarem dos hábitos alimentares dos Tupi. Diante disso, houve a introdução de espécies alimentícias, sobretudo, de interesse comercial, favorecendo assim a colonização no país.

Ainda segundo Dean (1989), a transferência de plantas adaptadas entre Portugal, Brasil e outras colônias se tornaria uma das mais poderosas armas do imperialismo lusitano. Durante o século XVIII, devido acirrada disputa pelo domínio do conhecimento das técnicas de produção agrícola entre os países, especialmente, europeus e asiáticos, o governo português ordenou aos estados brasileiros a criação de jardins botânicos e herbários como forma de cultivar, conservar e estudar espécies de interesse econômico, porém, somente o estado do Grão-Pará obteve êxito na execução da ordem tornado-se modelo para os outros estados (Sanjad, 2010).

O autor acima destacou que o enriquecimento da flora brasileira foi ainda incrementado em 1809 com a conquista da Guiana Francesa pelas tropas luso-brasileiras, em que os portugueses ao apossarem-se do La Gabriele¹ iniciaram a transferência da coleção de plantas existente nesse local, primeiramente para Belém e depois para o Rio de Janeiro e Olinda. Todavia, muitas outras formas de inclusão de plantas procedentes de outros países aconteceram no Brasil. Diante disso, um levantamento detalhado da identidade, quantidade e período exato da introdução dessas espécies no país é complexo (Dean, 1989). Porém, sabe-se que muitas foram bem aceitas e são hoje largamente utilizadas pela população, principalmente aquelas de valor terapêutico. Entre as quais, destaca-se *Vitex agnus-castus* L., natural da Europa e conhecida no Brasil, especialmente no Estado do Pará, por *Alecrim d'angola* (Pio Corrêa, 1926; Camargo, 1998).

Atualmente, essa espécie é intensamente pesquisada a partir do conhecimento popular de suas qualidades terapêuticas, de maneira especial para a cura de enfermidades ligadas ao sistema reprodutor feminino.

¹La Gabriele: Famoso complexo agrícola mantido pelos franceses.

Cunha (2007) afirmou que os saberes tradicionais sobre o uso de medicinais são tão importantes quanto os saberes científicos, pois servem de base para a investigação inicial dos estudos farmacológicos, fitoquímicos e agrônômicos sobre estas plantas, confirmando ou não seus efeitos pré-estabelecidos.

Hoje, muitos fatores têm contribuído para o aumento da utilização das plantas medicinais no Brasil e no mundo, entre eles, o alto custo dos medicamentos industrializados, o difícil acesso da população à assistência médica, bem como a tendência ao uso de produtos de origem natural (Silveira et al., 2008).

Especialmente no Brasil, há quem cultive ou colha pessoalmente as plantas que utiliza. Contudo, de acordo com Czekalski et al. (2009), é comum drogas vegetais² in natura ou secas, preparações fitoterápicas³ e produtos fitoterápicos⁴ serem largamente comercializados em feiras, supermercados e farmácias. No entanto, além dos benefícios comprovados dos ‘medicamentos’ naturais, os efeitos adversos de seu uso incorreto e indiscriminado são cada vez mais confirmados por pesquisas científicas (Amaral et al., 2003; Melo et al., 2004; Nascimento et al., 2005; Martins e Brandão, 2006; Tobias et al. 2007). Esses autores revelaram que problemas como imprecisão de identidade, teor de princípios ativos fraudulentos e mesmo contaminação por sujeira e outro material vegetal podem causar inúmeras intoxicações, o que faz aumentar a responsabilidade de quem produz e certifica esse tipo de produto. Brandão et al. (2002) contribuíram afirmando que a grande variedade de espécies vegetais, a desinformação sobre o tema e o fraco desenvolvimento tecnológico desta área, são fatores que também comprometem a real eficácia e a segurança dos produtos.

A botânica, através da morfologia e anatomia, destaca-se como uma das ferramentas capazes de diminuir parte dessa problemática. Segundo Donato e Morretes (2005), a anatomia vegetal coopera com o conhecimento das plantas medicinais, especialmente, no que diz respeito à sua correta identificação e controle de qualidade dos vegetais comercializados. Os

² Drogas vegetais: é toda planta ou suas partes, frescas ou que após sofrer processo de coleta e conservação, possuam propriedades que possibilitem seu uso (Fonte: ANVISA).

³ Preparação Fitoterápica: é produto vegetal triturado, pulverizado, rasurado; extrato, tintura, óleo essencial, gordura vegetal, suco e outros, obtido de drogas vegetais, através de operações de fracionamento, extração, purificação ou concentração, utilizada na obtenção de produto fitoterápico (Fonte: ANVISA).

⁴ Produto fitoterápico: é todo medicamento manufaturado obtido exclusivamente de matérias-primas ativas vegetais, com a finalidade de interagir com meios biológicos, a fim de diagnosticar, suprimir, reduzir ou prevenir estados e manifestações patológicas, com benefício para o usuário (Fonte: ANVISA).

autores enfatizaram que a diagnose de fitoterápicos baseia-se na análise morfológica de seus órgãos e em suas características organolépticas, além de sua micromorfologia revelada com o auxílio da microscopia óptica e da microscopia eletrônica de varredura, importantes para o estabelecimento de padrões com os quais as amostras de exemplares vegetais utilizados como fitoterápicos possam ser comparadas, possibilitando a comprovação de sua autenticidade.

No Brasil, a descrição da morfologia externa e interna de espécies vegetais que serve como base para o desenvolvimento de fármacos é determinada pela RDC n° 14 da ANVISA, de 31/03/2010. Contudo, para espécies medicinais pertencentes à família Verbenaceae, essas descrições ainda são escassas.

Assim, com a proposta de listar as principais características de *Vitex agnus-castus* L. e oferecer as bases iniciais para subsidiar ciências correlatas, a presente pesquisa tem como objetivo descrever a morfologia externa e interna dos órgãos vegetativos aéreos da espécie, enfatizando a diversidade estrutural dos tricomas presentes na superfície desses órgãos, além de avaliar a dinâmica de distribuição e os diferentes estádios de desenvolvimento dos tricomas ao longo do eixo vegetativo aéreo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Classificação Taxônomica (Cronquist, 1981)

Reino: Vegetabilis
Divisão: Magnoliophyta
Classe: Magnoliopsida
Subclasse: Asteridae
Ordem: Lamiales
Família: Verbenaceae
Subfamília: Viticoidea
Gênero: Vitex L.
Espécie: Vitex agnus-castus L.

2.2. Família Verbenaceae Juss.

A família Verbenaceae é constituída por cerca de 100 gêneros e 2600 espécies, predominantemente pantropicais, não fosse um número limitado de espécies ocorrendo nas regiões temperadas (Cronquist, 1981). Segundo esse autor, os maiores gêneros são Clerodendrum L. (400 spp.), Verbena L. (250 spp.), Vitex L. (250 spp.), Lippia L. (200 spp.), Premna L. (200 spp.) e Lantana L. (150 spp.). No Brasil, ocorrem cerca de 17 gêneros e 250 espécies (Souza e Lorenzi, 2005). Poser et al. (1997) consideraram que a família Verbenaceae pode ser dividida em sete subfamílias (Verbenoideae, Chloanthoideae, Viticoideae, Caryopterioideae, Symphoremioideae, Stilboideae e Avicennioideae) com base no tipo de inflorescência e posição dos óvulos.

Em termos gerais, Cronquist (1981) descreveu as Verbenaceae como ervas, arbustos, árvores ou lianas, aromáticas, ramos quadrangulares; folhas opostas, raramente verticiladas, simples e compostas, sem estípulas e com margem serreada. Essas descrições foram confirmadas em *Lippia sidoides* Cham. (Nunes et al., 2000), *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Milaneze-Gutierrez et al., 2003), *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. (Santos et al., 2004), *Verbena litoralis* Kunth (Souza et al., 2005) e *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Braga et al., 2009).

Trabalhos anatômicos referentes à família Verbenaceae são poucos e destacam-se os de cunho geral apresentados por Solereder (1908) e Metcalfe e Chalk (1950) que afirmaram ser dorsiventrais ou isobilaterais as folhas das espécies e nas superfícies de halófitas ocorre

presença de cera; apresentam diversos tipos de tricomas glandulares e tectores, com cristólitos nas células basais e suas pontas podem ser calcificadas; os estômatos são variáveis em tipos, ocorrendo, principalmente anomocítico e diacítico, em uma ou ambas superfícies da folha.

De acordo com Solereder (1908), folhas hipostomáticas são encontradas, sobretudo, em espécies dos gêneros *Duranta* L., *Lippia* L., *Petrea* L., *Premna* L., *Vitex* L.; os nectários extraflorais são comuns em *Clerodendron* L.; e os caules, quando jovens, são frequentemente quadrangulares ou poligonais, em secção transversal.

Estudo comparativo do caule em estrutura primária de algumas espécies de Verbenaceae realizado por Bonzani et al. (2003) demonstrou, que em secção transversal, esse órgão é subquadrangular com ângulos arredondados em *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc., subhexagonal ondulado em *A. polystachya* (Griseb.) Mold., subquadrangular com ondulações pronunciadas em *A. citriodora* Palau, subpoligonal em *Lantana camara* L. e subtriangular com numerosas projeções em *Lippia* spp.

Solereder (1908) afirmou que é comum encontrar em Verbenaceae, caule revestido por periderme. Afirmção corroborada em estudo de Braga et al. (2009) na espécie em *Priva lappulacea* (L.) Pers.

Quanto ao seu potencial econômico, as espécies dessa família são, de acordo com Lorenzi e Souza (2001), amplamente exploradas, tanto como ornamentais, quanto terapêuticas. Pimenta et al. (2007) reiterou que *Lippia* L. destaca-se como um dos gêneros mais analisados farmacologicamente, contando com uma variedade de espécies de uso terapêutico, tais como *L. sidoides* Cham., *L. multiflora* Mold., *L. dulcis* Trevir. e *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. Essa última considerada a mais popular e comumente chamada de erva cidreira. Outra importante representante da família Verbenaceae é a *Tectona grandis* L., habitualmente conhecida por Teca e com grande procura no mercado mundial, principalmente pela beleza, resistência e durabilidade de sua madeira (Macedo et al., 2005).

2.3. Gênero *Vitex* L.

O nome *Vitex* deriva do latim *vitilium* que significa trançado, entrelaçado (Font Quer, 1978). Segundo o autor, esse nome trata-se de uma referência a intensa ramificação de seus ramos duros, porém, flexíveis. Esse gênero possui espécies nas partes mais quentes dos hemisférios, algumas se estendendo para a Europa e Ásia temperada (Pio Corrêa, 1926). Com aproximadamente 250 espécies, sendo várias delas tidas como medicinal (Sousa e Lorenzi, 2008). Fonseca et al. (2006) afirmaram que no Brasil ocorrem diversas espécies, desde a

Amazônia (*V. odorata* Huber, *V. triflora* Vahl.) passando pelo Brasil Central (*V. cymosa* Bertero ex Spreng.) até o Rio Grande do sul (*V. montevidensis* Cham.). esses autores destacaram que *Vitex negundo* L. é utilizado para moléstias como afecções reumáticas e estados febris, já *V. triflora* Vahl. apresenta propriedades curativas da bronquite crônica.

Morfológicamente, as espécies do gênero são, de acordo com Schauer (1851), árvores ou arbustos; com ramos glabros ou pilosos; as folhas são compostas, pecioladas, opostas, palmadas, folioladas, com 3-8 folíolos peciolulados, de margem inteira, dentada ou serrilhada. Quanto à anatomia, destacam-se as informações gerais apresentadas por Metcalfe e Chalk (1950) que atribuíram à maioria das espécies do gênero, tricomas tectores unisseriados, amplamente distribuídos na superfície dos órgãos; estômatos, em sua maioria, na face inferior da lâmina foliar; mesofilo constituindo inteiramente de tecido paliçádico; caule com feixe vascular em cilindro contínuo, geralmente transcorrido por raios estreitos e lignificado, vasos de tamanhos principalmente médios, porém, pequenos em algumas espécies arbustivas; padrão radial ou oblíquo, perfuração simples, salvo raras placas reticuladas em *Vitex alata* L., podendo encontrar em espécies do gênero, algumas placas escalariformes.

Azimi et al. (2006) realizaram pesquisas com as espécies *V. agnus-castus* L., *V. negundo* L., *V. pseudo-negundo* Hand.-Mazz., *V. trifolia* L. e *Vitex* spp. e observaram epidermes comuns a todas as espécies, assim como o tipo de colênquima e formato das células parenquimáticas, o pecíolo e peciólulo apresentaram traços foliares, os tricomas variaram em tipos, porém, não separaram espécies.

Em levantamento realizado por Sá-Barreto et al. (2008) referente às várias espécies de *Vitex* já estudadas, foi constatado que as mais investigadas foram *Vitex negundo* L. (224 publicações), *V. trifolia* L. (116 publicações), *V. agnus-castus* L. (179 publicações) e *V. rotundifolia* L. (75 publicações). No entanto, os autores não definiram a área de atuação dessas pesquisas, enfatizando apenas que muitas das espécies são utilizadas em atividades terapêuticas e incorporadas a inúmeros fitoterápicos comercializados.

2.4. Espécie *Vitex agnus-castus* L.

O termo *agnus* vem do grego *agnos*, que significa cordeiro e *castus* do latim *castitas*, que significa castidade (Font Quer, 1978). Esse nome foi atribuído a espécie em virtude do efeito inibidor das sensações sexuais que essa provocava (Hoehne, 1939). Segundo este autor,

donzelas castas e monges espalhavam folhas e flores da espécie em seus leitos e roupas, além de a consumirem em forma de chá, com o propósito de suprimir o desejo sexual.

Nativa da decídua Europa mediterrânica, da Ásia Central e partes da Índia (Pio Corrêa, 1926), porém, totalmente adaptada e cultivada no Brasil, é conhecida popularmente por Alecrim-de-planta, alecrim-do-norte e alecrim-d'angola (PA), pau-de-angola (PA, MA) alfazemão, árvore-de-castidade, erva-de-cabloco, liamba (PE). Internacionalmente como: Alemanha - abrahamstrauch, keuschlanm, klosterfeffer, moenchspfeffer; Espanha- agnocasto, gatillo casto, pimienta loco, saucegatillo, sauzgatillo, zerobo; França- agneau chaste, arbre à poivre, gattilier; Inglaterra- chaste tree, monks pepper-tree; Itália- agno casto, titice; Portugal- agno-casto, anho-puro, árvore-da-castidade, pimenteiro-silvestre (Camargo, 1998).

O autor acima destacou que a espécie foi inicialmente registrada no Brasil através do Candomblé por meio da utilização de bebidas preparadas com suas flores e folhas buscando o equilíbrio provocado pela sua ação tranquilizante. Em Belém do Pará, há registros do uso dessa espécie na preparação de banhos de cheiros em casas de cultos afro-brasileiros, objetivando a purificação do corpo (Figueiredo e Silva, 1983). Na medicina popular da Amazônia e em outras regiões do país é utilizada em virtude de suas propriedades terapêuticas (Albuquerque, 1989).

A partir de 1900, foi iniciada a investigação química de *V. agnus-castus* L., em 1950 os estudos farmacológicos em clínicas e laboratórios (Maia et al., 2001). As pesquisas científicas já realizadas sobre a espécie enfatizaram principalmente o poder medicinal causado pelos princípios ativos encontrados em seus órgãos, sobretudo, folhas e frutos. De acordo com Zogbhi et al. (1999) e Dugoua et al. (2008), em geral essa espécie contém flavonóides, iridóides, glicosídeos, diterpenos e óleos essenciais (limoneno, cineol, pineno e sabineno). Segundo análises, é considerada eficaz no tratamento de amenorréia, dismenorreia (Schellenberg, 2001; Ohyama et al., 2003; Roemheld-Hamm, 2005; Fonseca et al., 2006; Costa et al., 2009), menopausa, insuficiência de progesterona (Nasri et al., 2004), infertilidade, mastalgia (Carmichael, 2008), além de auxiliar, através de fitoestrogênio, a reabilitação de fraturas nos ossos (Öztürk et al., 2008)

Em recente estudo publicado na *Alternative Medicine Review* (2009), o uso de medicamentos a base de *V. agnus-castus* L. foi contra-indicado durante a gravidez e lactação, devido os efeitos desconhecidos no início da gestação e possíveis efeitos hormonais. Outras implicações adversas frequentemente associadas à sua utilização foram citadas por Carmichael (2008), como náuseas, cefaléia e distúrbios gastrointestinais.

Nota-se, que o conhecimento farmacológico de *V. agnus-castus* L. é vasto e sua eficácia está cada vez mais subsidiada por respeitáveis profissionais, porém, assim como a maioria das espécies pertencentes à família Verbenaceae e principalmente o gênero *Vitex*, apresenta carência de informações referentes às suas características botânicas.

Em rara análise sobre a estrutura interna de *V. agnus-castus* L., Azimi et al. (2006) realizaram estudos referentes ao pecíolo e aos tricomas existentes nessa estrutura. Segundo os autores, o pecíolo da espécie é alado, com traços foliares próximos a medula; apresenta colênquima angular; as células parenquimáticas são de diferentes tamanhos e formas, além de possuírem paredes delgadas; os feixes vasculares são em forma de arco, bicolateral, com floema interno segmentado; os tricomas são tectores e glandulares, esses podendo ser capitados ou peltados.

Nesse estudo, é possível ter acesso a informações mais abrangentes e detalhadas sobre as características morfológicas e anatômicas de *V. agnus-castus* L., pois ao contrário dos estudos de Azimi et al. (2006) que analisaram somente o pecíolo, essa pesquisa examina, adicionalmente, outras estruturas foliares como o limbo, peciólulo, pulvino e pulvínulo. Sobre o caule, Dogan et al. (2008) fizeram referência apenas ao estágio herbáceo, não mencionando as características do lenho, lacuna preenchida pela presente pesquisa. Além disso, esses últimos autores não mencionaram a ocorrência de tricomas glandulares tanto no limbo quanto no caule, com representatividade elevada nesse atual estudo.

Em termos gerais, as informações referentes aos tricomas nos estudos relacionados à família Verbenaceae são direcionadas, em sua maioria, as descrições estruturais. Nessa pesquisa, adiciona-se a dinâmica de distribuição desses apêndices nos órgão vegetativos aéreos, bem como seus diferentes estádios de desenvolvimento, possibilitando, dessa forma, ampliar o conhecimento acerca dos tricomas e inventariar dados inéditos para a espécie.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de coleta

A coleta do material botânico foi realizada no Campus de pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi, município de Belém-PA, localizado nas coordenadas $1^{\circ} 27'5, 69''$ S e $48^{\circ} 26'40, 38''$ O (Fig. 1).

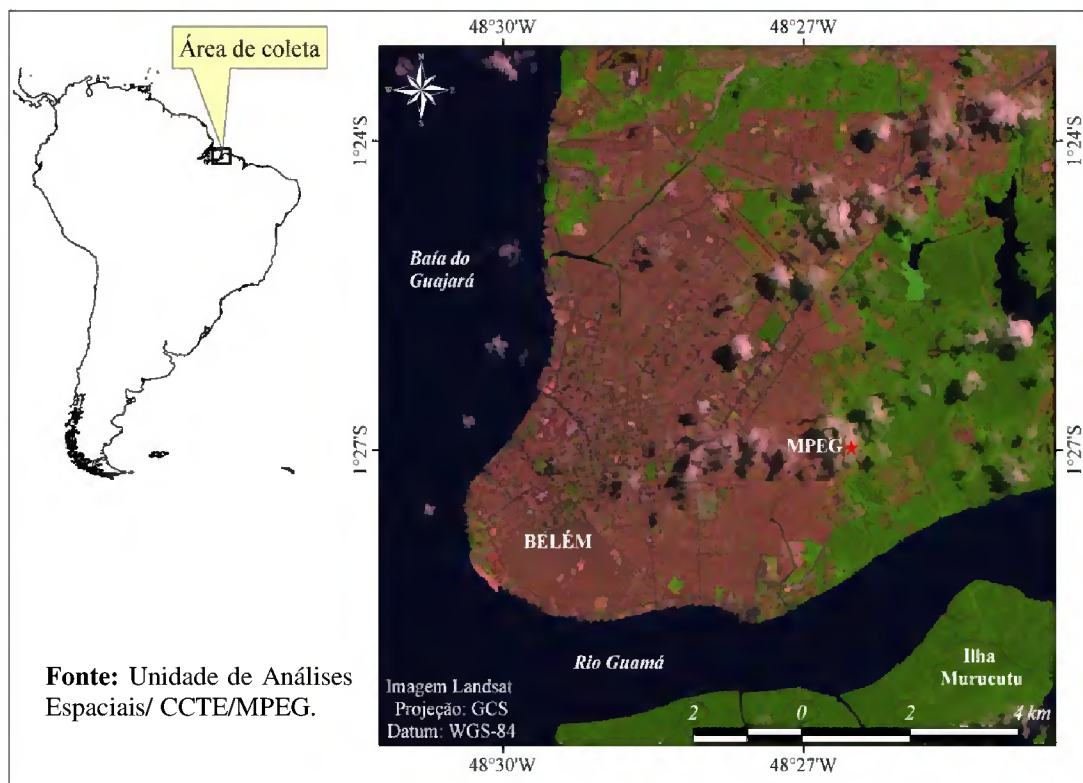


Figura 1: Localização geográfica da área de coleta

3.2. Material botânico

As amostras foram retiradas de indivíduos férteis de *Vitex agnus-castus* L. (Fig. 2A). Parte do material foi destinada a confecção de exsicata e incorporação ao Herbário MG e a Xiloteca Walter Alberto Engler, ambos do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) e outra parte foi destinada a realização das técnicas anatômicas. Foram selecionados três indivíduos, dos quais as folhas completamente expandidas foram extraídas do 5º e 6º nós em um número de 15 folhas por indivíduo. O caule herbáceo foi retirado dos três primeiros entrenós a partir do ápice caulinar (Fig. 2B e C) e o caule lenhoso retirado a 1,45m de altura a partir do solo (Fig. 2D). Para o estudo dos tricomas as amostras de folha e caule foram retiradas do 1º ao 9º nó e entrenó de um ramo dos indivíduos, sempre nas primeiras horas do dia.

3.3. Padrões de descrição

A descrição morfológica foi realizada segundo nomenclatura de Agarez et al. (1994). Como apoio à caracterização anatômica foi consultado trabalho de Metcalfe e Chalk (1950). Para a descrição das estruturas macroscópicas da madeira foram utilizadas as normas do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Renováveis/IBAMA (1992) e para a descrição microscópica, foram utilizados os métodos tradicionais, seguindo as recomendações da International Association of Wood Anatomists/ IAWA (1989). Os tricomas foram descritos com base nas terminologias usadas por Theobald (1979), Fahn (1990) e Ascensão (1995; 1999).

3.4. Análise anatômica

Para as técnicas anatômicas foliares utilizou-se o maior folíolo dividido nas regiões apical, mediana e basal. Essas, divididas nas sub-regiões: nervura central, região intermediária e margem. O pecíolo, pecíolulo, pulvino, pulvínulo e caule herbáceo foram analisados na região mediana (Fig. 3 A, B, C). Quanto as amostras do lenho, foram confeccionados corpos de prova no tamanho de 2 x 2 x 2 cm, para a realização das descrições anatômicas macroscópicas e para serem submetidos às técnicas anatômicas.

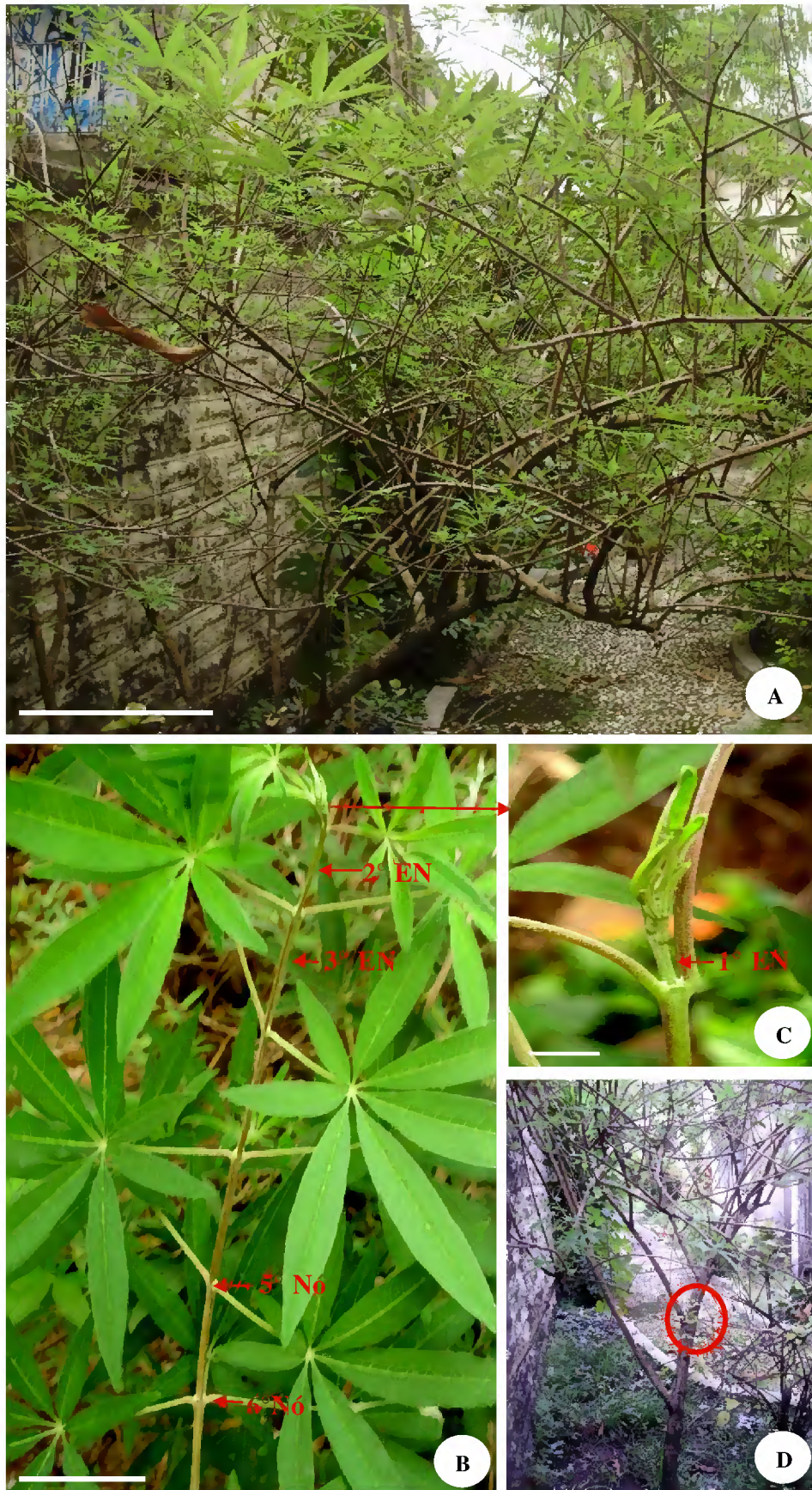


Figura 2: Imagens dos pontos de retirada de amostras em *Vitex agnus-castus* L. **A:** Vista geral da espécie. **B:** Ramo foliar com destaque para os nós e entrenós utilizados. **C:** Detalhe do primeiro entrenó. **D:** Ponto de retirada do lenho. **Barras:** **A:** 80 cm. **B:** 5 cm. **C:** 0,5 cm. **D:** 50 cm. **EN-** Entrenó.

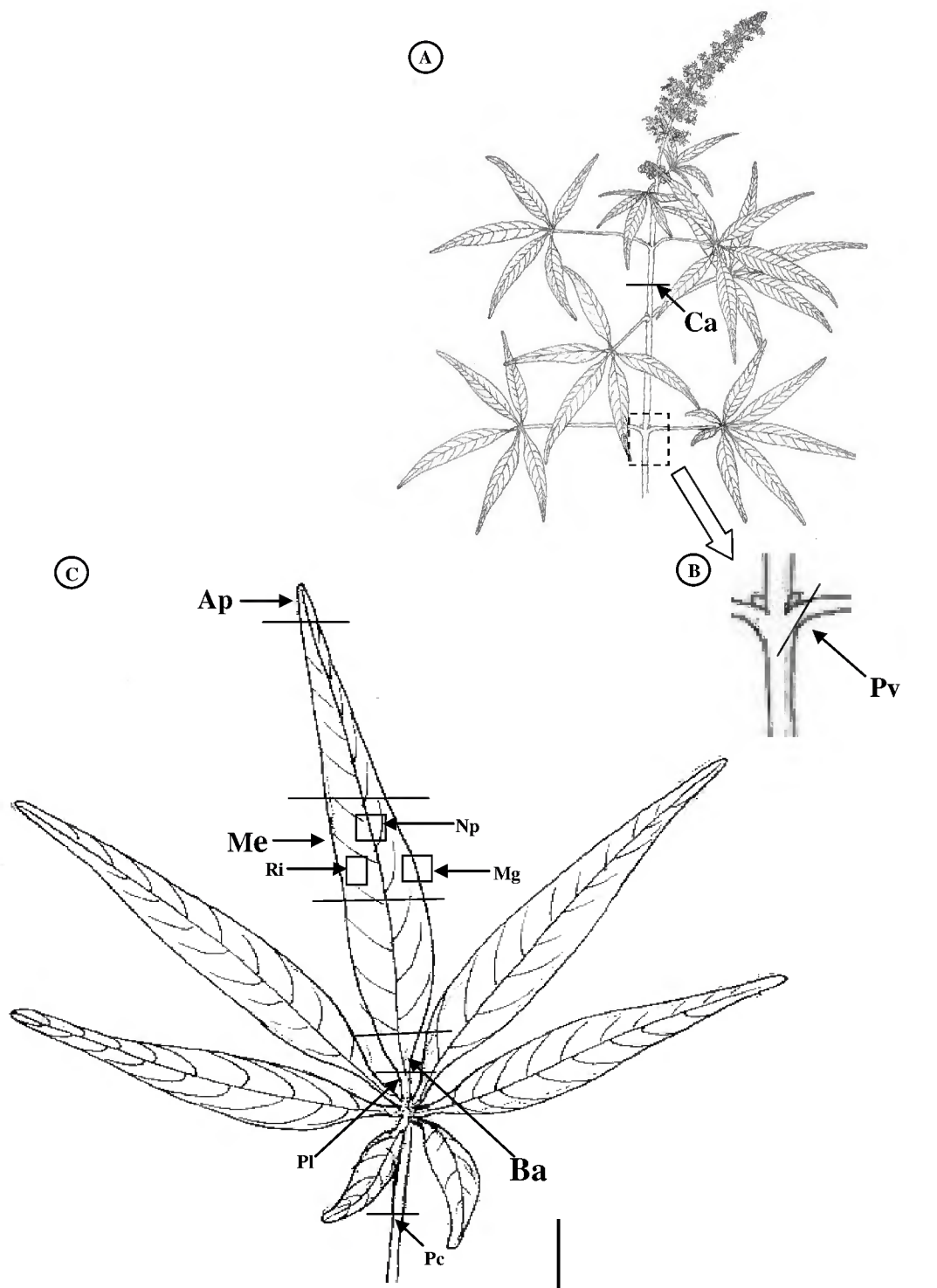


Figura 3: Representação esquemática das áreas seccionadas em caule e folha de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Porção mediana do entrenó/caule. **B:** Detalhe evidenciando o pulvino. **C:** Folha com destaque para o folíolo seccionado em diferentes regiões. **Barras:** **A:** 8 cm. **B:** 0,5 cm. **C:** 1 cm. **Ap-** Ápice, **Ba-** Base, **Ca-** Caule, **Me-** Meio, **Mg-** Margem, **Np-** Nervura principal, **Pc-** Pecíolo, **Pl-** Pecíolulo, **Pv-** Pulvino, **Ri-** Região intermediária.

3.4.1. Fixação

O material botânico foliar e caulinar primário destinado a realização das secções histológicas foi fixado em FAA₇₀ mantido em vácuo por 24 horas (Johansen, 1940) e FNT (Formalina Neutra Tamponada) por 48 horas, e posteriormente transferidos para álcool etílico 70%.

As amostras utilizadas para o estudo dos tricomas através de MEV foram fixadas em solução contendo Glutaraldeído 2,5% e Tampão Fosfato a 0,1 M, deixadas overnight em geladeira, posteriormente lavadas três vezes com a solução tampão, permanecendo nesta por uma hora durante cada lavagem (Bozzola e Russel, 1991). Logo após, as amostras foram submetidas à solução contendo Tetróxido de Ósmio 1% e T. fosfato 0,1 M por duas horas, conservado em geladeira; (Bozzola e Russel, 1991). Em seguida realizou-se lavagem com solução tampão permanecendo overnight. Após, seguiu-se o procedimento, com a desidratação etanólica do material para então serem submetidas às técnicas usuais em MEV.

3.4.2. Dissociação de epidermes

As secções foram fervidas em solução aquosa de ácido nítrico 20% por 20 a 30 minutos. Após completa dissociação, as epidermes foram lavadas em água destilada, retirando-se o mesofilo excedente com auxílio de pincéis. Posteriormente, foram coradas com azul de astra e fucsina básica 1%, seguindo-se a desidratação pela série etanólica (Johansen, 1940) e pós-desidratação pela série aceto-butílica (Kraus e Arduin, 1997) e então montadas em bálsamo-do-canadá entre lâmina e lamínula.

3.4.3. Secções histológicas

Na folha foram realizadas secções histológicas transversais e longitudinais na lâmina foliolar, pecíolo, pulvino, peciólulo e pulvínulo; no caule primário as secções foram transversais e longitudinais, e no caule secundário estas foram transversais, longitudinais e tangenciais.

A. Secções feitas à mão

As secções à mão foram feitas na folha e no caule primário, com o auxílio de lâmina de aço, utilizando isopor como suporte. Em seguida, foram clarificadas em solução aquosa de hipoclorito de sódio comercial 2:1 (v: v). Após total despigmentação foram lavadas com água

destilada e coradas com azul de astra 1% e safranina 1% (Gerlach, 1977). A montagem foi feita em glicerina aquosa 50% entre lâmina e lamínula, isolando-se as bordas da lamínula com esmalte incolor (Purvis et al., 1964). As seções foram ainda submetidas ao teste com solução de Lugol para a localização de amido.

B. Secções feitas em micrótomo rotativo

O material foliar e caulinar primário foi desidratado em série etanólica crescente (Johansen, 1940) e infiltrado e incluído em historresina Leica (segundo especificações do fabricante). As seções com 7-10 μm foram realizadas em micrótomo rotativo Reicher-Jung, modelo 1130/Biocut. Em seguida foram distendidas em lâmina com uma gota de água, sobre chapas aquecida 60° C., posteriormente as lâminas foram coradas com azul de toluidina e montadas em glicerina (Purvis et al., 1964).

C. Secções feitas em micrótomo de deslize

O corpo de prova do lenho foi fervido para amolecimento. Em seguida, com o auxílio de um micrótomo de deslize Reichit, foram feitos cortes histológicos, com espessura variando entre 15 e 18 μm . Os cortes foram divididos em dois grupos, sendo um dos grupos clarificados em solução de hipoclorito de sódio comercial (2,5%) em seguida, lavados até a sua completa remoção, posteriormente passaram por uma série progressiva de álcool 50%, safranina hidroalcoólica, álcool 70%, álcool absoluto, álcool/acetato 1:1, acetato. Os cortes do outro grupo foram submetidos à mesma série do primeiro grupo, com exceção da etapa de coloração com safranina. A montagem das lâminas foi feita com bálsamo-do-canadá diluído em acetato na proporção de 1:3 (Johansen, 1940).

3.4.4. Maceração

Amostras foliares e lascas longitudinais do lenho foram, separadamente, imersas em uma mistura de peróxido de hidrogênio 30 volumes e ácido acético glacial (1:1 v/v) (Franklin, 1945) e levadas a estufa a 60° C, por 24 horas para folhas, e 48 horas para madeira. Posteriormente, as amostras foram lavadas em água destilada até completa remoção da solução macerante e coradas em safranina hidroalcoólica 1% (Johansen, 1940). A montagem foi feita em glicerina aquosa (1:1 v/v) entre lâmina e lamínula (Purvis et al., 1964).

3.4.5. Contagens e Mensurações

Na porção central do corpo de prova foram realizadas as contagens e mensurações dos vasos (n° / mm^2), de tipo de agrupamento (%), raios (largura e altura em número de células, altura em micrômetro, frequência por mm linear e percentual de raios simples e fusionados) em cortes histológicos nas seções transversal e longitudinal tangencial, utilizando-se um sistema de análise digital, com microscópio acoplado ao computador. As medidas da espessura da parede, da largura do lume e do comprimento das fibras, bem como do comprimento dos elementos de vaso foram realizadas em material macerado.

3.4.6. Ilustrações

A. Fotografias e Fotomicrografias

As fotografias foram obtidas com auxílio de máquina fotográfica digital Olympus de oito megapixels, na função manual com macro. As fotomicrografias foram realizadas no Laboratório de Microscopia – MPEG, com auxílio de câmera fotográfica digital Cannon Power shop A640, acoplada ao microscópio de luz Zeiss de modelo Axiolab em diferentes ampliações.

B. Eletromicrografia

Para as Análises em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), amostras foliares foram desidratadas segundo Johansen (1940), processadas em secador de ponto crítico de CO_2 , aderidas sobre suportes metálicos através de fita de carbono dupla face e metalizadas com ouro, com aproximadamente 20nm de espessura, por 150 segundos em corrente de 25 mA. As eletromicrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura modelo LEO 1450 VP, utilizando-se detectores de elétrons secundários (ES) e de elétrons retro-espelhados (ERE). As escalas micrométricas foram projetadas nas mesmas condições óticas.

4. RESULTADOS

4.1. Descrição morfológica dos órgãos vegetativos aéreos de *Vitex agnus-castus* L.

A espécie *Vitex agnus-castus* L. é um arbusto com cerca de 3m de altura com ramificação simpodial (Fig. 4A). Possui ramos cilíndricos medindo de 0,6 a 1,5 m de comprimento com entrenós de 0,5 a 10 cm de comprimento, esverdeado até o 3º entrenó, adquirindo coloração marrom nos subsequentes (Fig. 4B). Pecíolo de 0,5 a 8 cm de comprimento, inserção central (Fig. 4C), densamente piloso (Fig. 4D) e com presença de pulvino (Fig. 4E). Gemas axilares triangulares opostas (Fig. 4F). Folhas aromáticas, opostas cruzadas, compostas, digitadas, variando de 2,0 a 20 cm de comprimento e 1,2 a 18 cm de largura, coloração verde escuro na face adaxial (Fig. 4G) e esbranquiçada na abaxial (Fig. 4H). Em média 5 a 7 folíolos de 1,5 a 12,5 cm de comprimento e 0,3 cm a 2 cm de largura, coriáceos, pilosos, lanceolados, margem lisa, nervura principal fina no ápice e espessa na base (Fig. 4I), ápice agudo (Fig. 4J), base atenuada, por vezes assimétrica e peciólulos de aproximadamente 0,3 cm de comprimento (Fig. 4L). As nervuras secundárias alternas e opostas formam pequenos arcos que não tocam a margem, configurando o padrão de venação bronquidródomo (Fig. 4M).

4.2. Descrição anatômica dos órgãos vegetativos aéreos de *Vitex agnus-castus* L.

4.2.1. Epiderme foliolar

O folíolo de *Vitex agnus-castus* L. possui epiderme adaxial plana e abaxial com algumas ondulações (Fig. 5A). São diferenciadas ainda, pelo tipo de tricomas presente na superfície (Figs. 5B, C). Em ambas faces, as células epidérmicas apresentam, em vista frontal, contornos desiguais que variam de poligonais a ovais, com paredes anticlinais e periclinais retas, levemente curvadas no ângulos (Fig. 5D), sobre as nervuras são alongadas longitudinalmente, com paredes retas. Em secção transversal, as células epidérmicas foliulares são ovais a tabulares e espessadas (Fig. 5E). Os estômatos são encontrados exclusivamente na epiderme abaxial do folíolo, classificando a folha como hipoestomática. Os estômatos são do tipo anomocítico e ligeiramente acima das demais células epidérmicas (Fig. 5F, G).

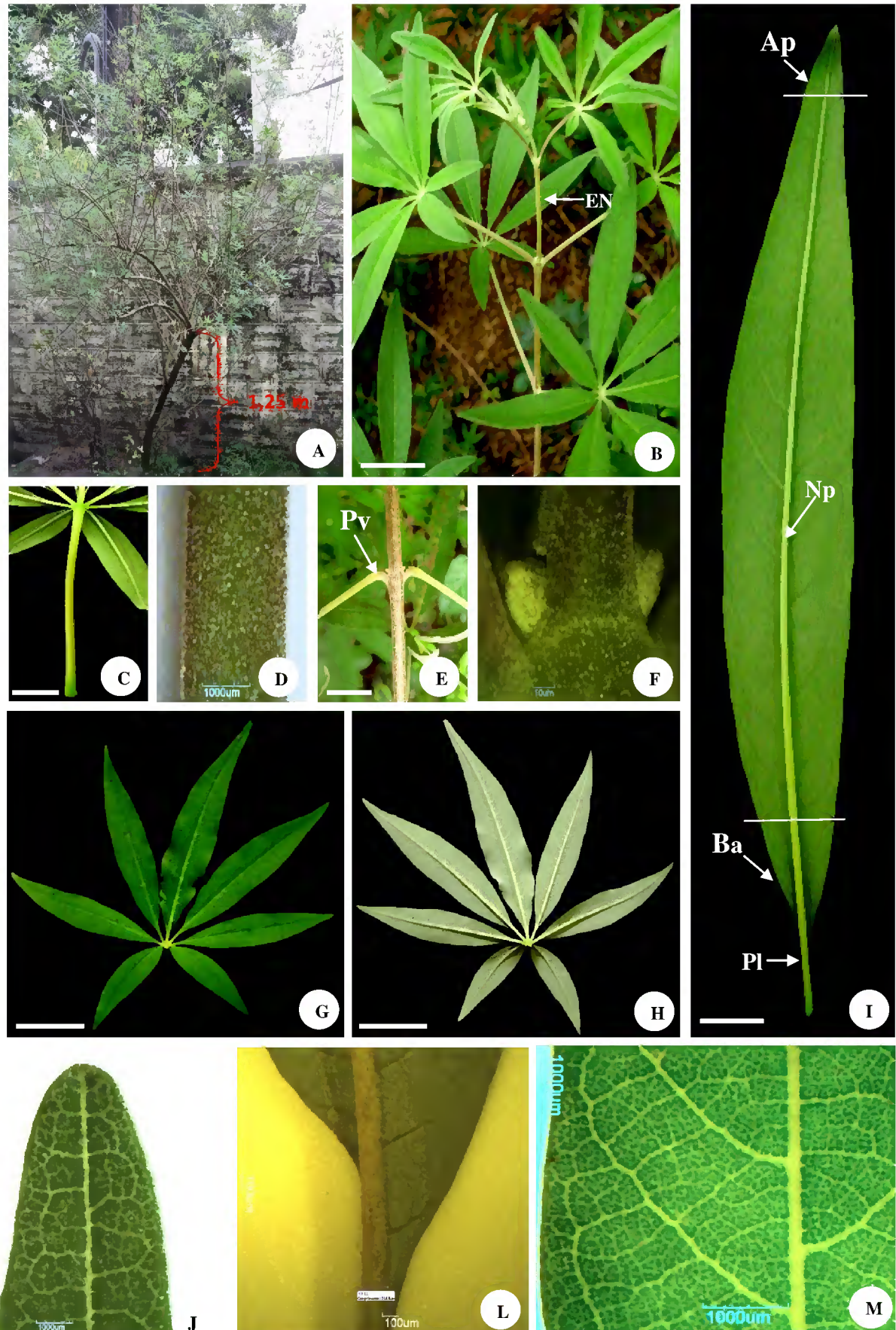


Figura 4: Imagens dos aspectos morfológicos de *Vitex agnus-castus* L.: **A:** Ramificação simpodial. **B:** Filotaxia oposto-cruzada. **C:** Inserção central do pecíolo. **D:** Pilosidade do pecíolo. **E:** Pulvino. **F:** Gemas. **G-H:** Folha. **G:** Face adaxial. **H:** Face abaxial. **I:** Foliolo lanceolado com destaque para a nervura principal e pecíolulo. **J:** Ápice foliolar agudo. **L:** Base assimétrica. **M:** Venação bronquidródoma. **Barras:** **B:** 8 cm. **C, E, G, H:** 1 cm. **I:** 0,3 cm. **Ap-** Ápice, **Ba-** Base, **EN-** Entrenó, **Np-** Nervura Principal, **Pv-** Pulvino, **Pl-** Pecíolulo.

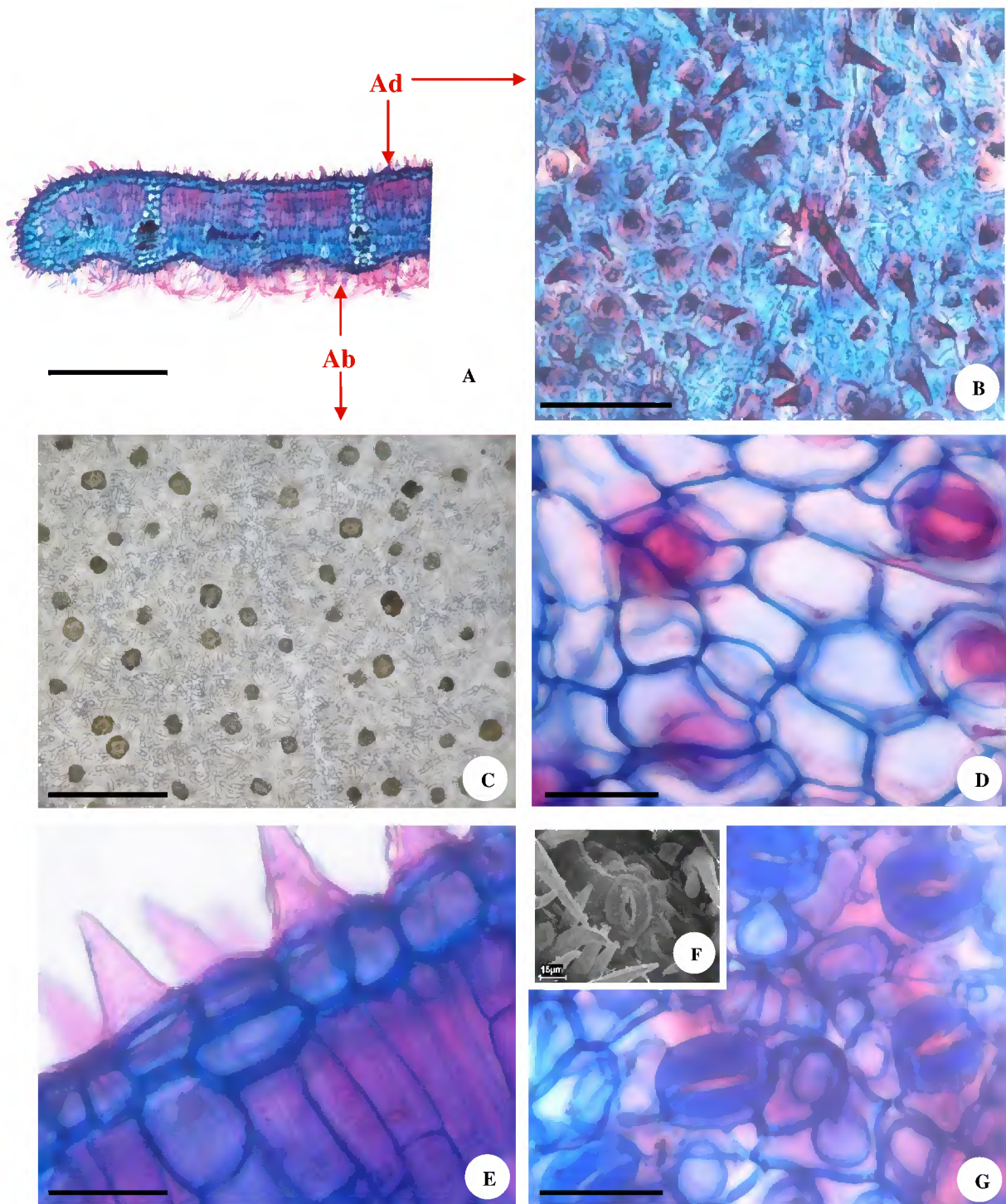


Figura 5: Fotomicrografias da epiderme foliar de *Vitex agnus-castus* L.: **A-** Vista geral das faces do limbo em secção transversal. **B-D:** Vista frontal das faces do limbo. **B:** Face adaxial. **C:** Face abaxial. **D:** Células epidérmicas em vista frontal. **E:** Célula epidérmica em secção transversal. **F-G:** Estômatos anomocíticos. **Barras:** A: 150 µm. B: 80 µm. C: 100 µm. D-E: 40 µm. G: 30 µm. Ad- Adaxial, Ab- Abaxial.

4.2.2. Tricomas

4.2.2.1. Descrição dos Tricomas

Os tricomas estão presentes em toda a superfície dos órgãos vegetativos aéreos de *Vitex agnus-castus* L., podendo ser tectores ou glandulares. Os tectores são simples, uni ou pluricelulares, de superfície lisa, variam de 16,28 a 342 μm de comprimento, por vezes apresentam células epidérmicas dispostas em círculo ao redor da base e que se expandem juntamente com a folha.

Neste estudo foi possível observar, de acordo com o formato e número de células, a ocorrência de três tipos de tricomas tectores ocorrendo nos órgãos, classificados em: **Tipo I:** Tector com 2-3 células em formato conoidal (Figs. 6A, B e 8A); **Tipo II:** Tector com 2-5 células, filamentosos, com 10-12 células epidérmicas basais (Figs. 6C, D, E); **Tipo III:** Tector com 3-5 células, com projeção angular que atribui o formato de um braço ao tricoma (Fig. 6F).

Os tricomas glandulares, por sua vez, apresentam as formas capitadas e peltadas, ambos pluricelulares. Os capitados são constituídos por uma cabeça glandular sustentada por um eixo denominado pedicelo que varia de 4,47 a 231,1 μm de comprimento. Eventualmente, ocorre entre a cabeça glandular e o pedicelo, uma porção glandular esférica denominada de pescoço. Os peltados são desprovidos de pedicelo e possuem formas de acordo com o número de células. Em vista frontal, medem em média 47,53x 44,01 μm .

Os tricomas glandulares observados foram classificados, de acordo com o formato e número de células, em cinco tipos: **Tipo IV:** Capitado com pedicelo cônico, constituído por 2-3 células e cabeça glandular com 1-célula (Fig. 7A); **Tipo V:** Capitado com pedicelo reto, constituído por 2-6 células e cabeça glandular com 1-célula (Figs. 7B, C, 8A); **Tipo VI:** Capitado com pedicelo reto, constituído por 1-célula, 1-célula de pescoço e cabeça glandular com 1-célula (Fig. 7D); **Tipo VII:** Capitado com pedicelo reto, constituído por 1-célula e cabeça glandular com 2-células sobrepostas (Figs. 7E, 8B); **Tipo VIII:** Capitado com pedicelo reto, constituído por 1-célula e cabeça glandular com 2-células em disposição latero-lateral (Figs. 7F, 8C); **Tipo IX:** Peltado com 4-células secretoras (Fig. 7G, 8E, F) e **Tipo X:** Peltado com 1-célula secretora globóide também chamada de glândula perolada (Fig. 7H, 8G).

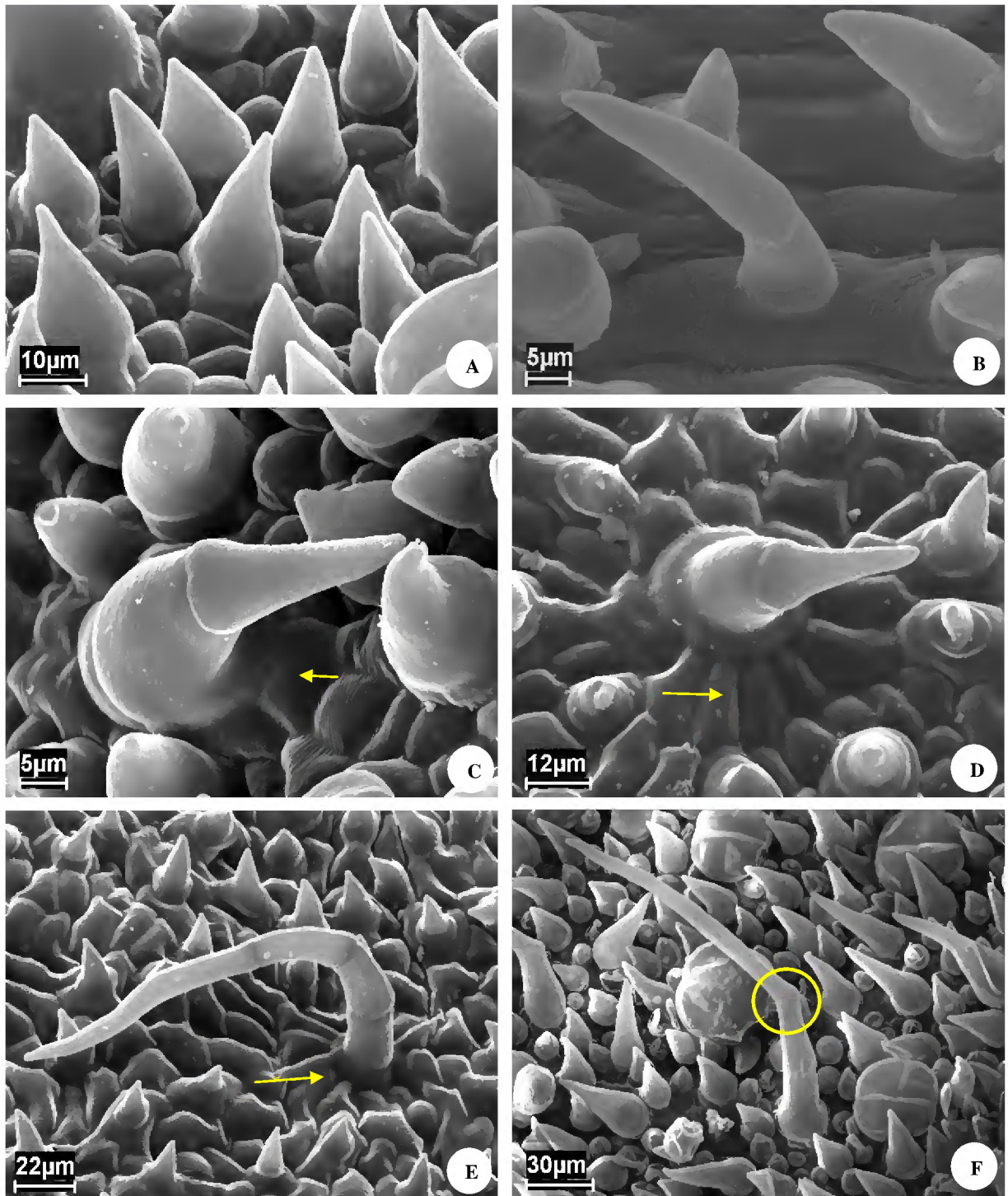


Figura 6: Eletromicrografia dos tipos de tricomas tectores presentes na superfície dos órgãos vegetativos aéreos de *Vitex agnus-castus* L. **A-B:** Tipo I. **C- E:** Tipo II. Setas- células basais. **F:** Tipo III. Círculo- projeção angular.

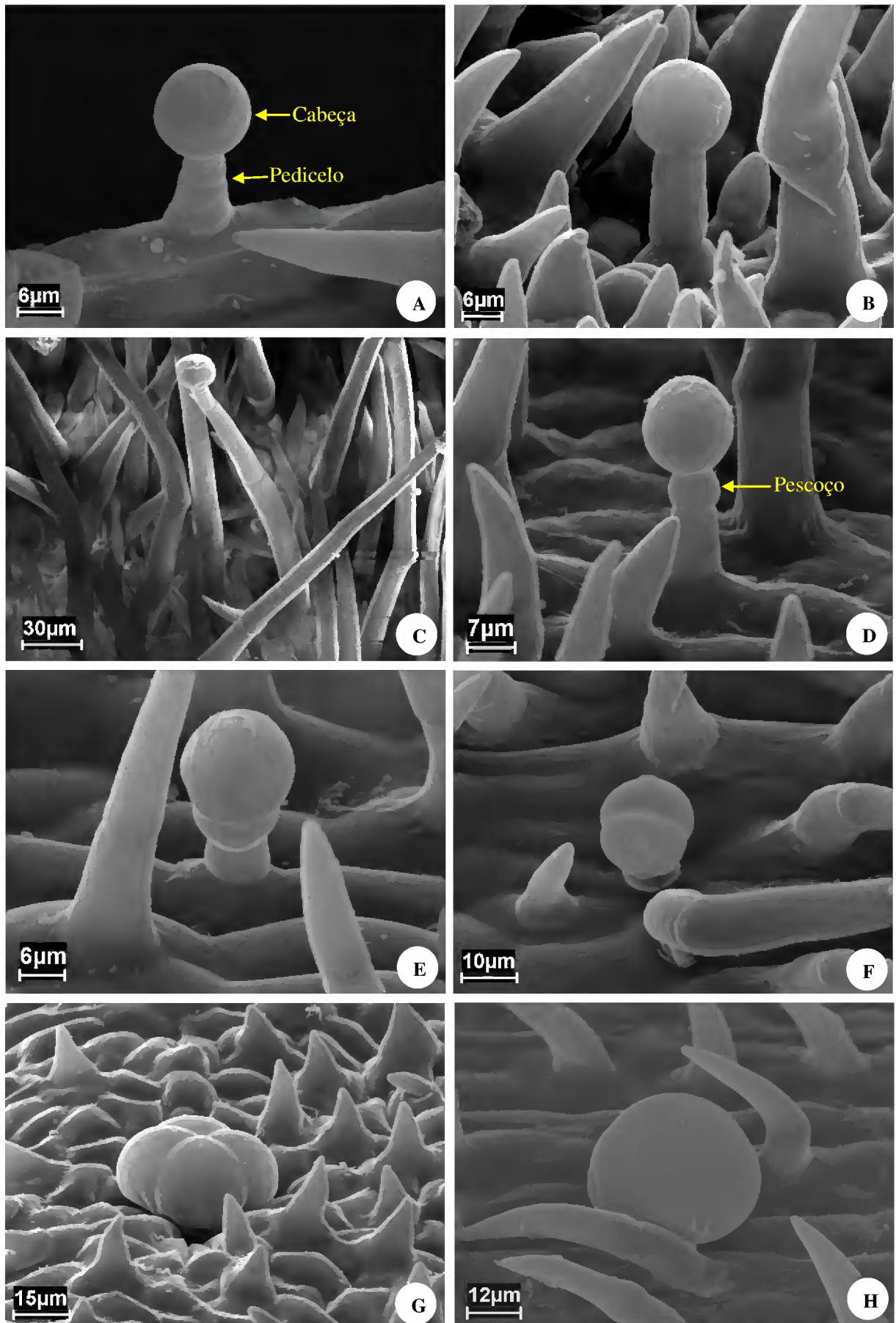


Figura 7: Eletromicrografia dos tipos de tricomas glandulares presentes na superfície dos órgãos vegetativos aéreos de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Tipo IV. **B- C:** Tipo V. **D:** Tipo VI. **E:** Tipo VII. **F:** Tipo VIII. **G:** Tipo IX. **H:** Tipo X.

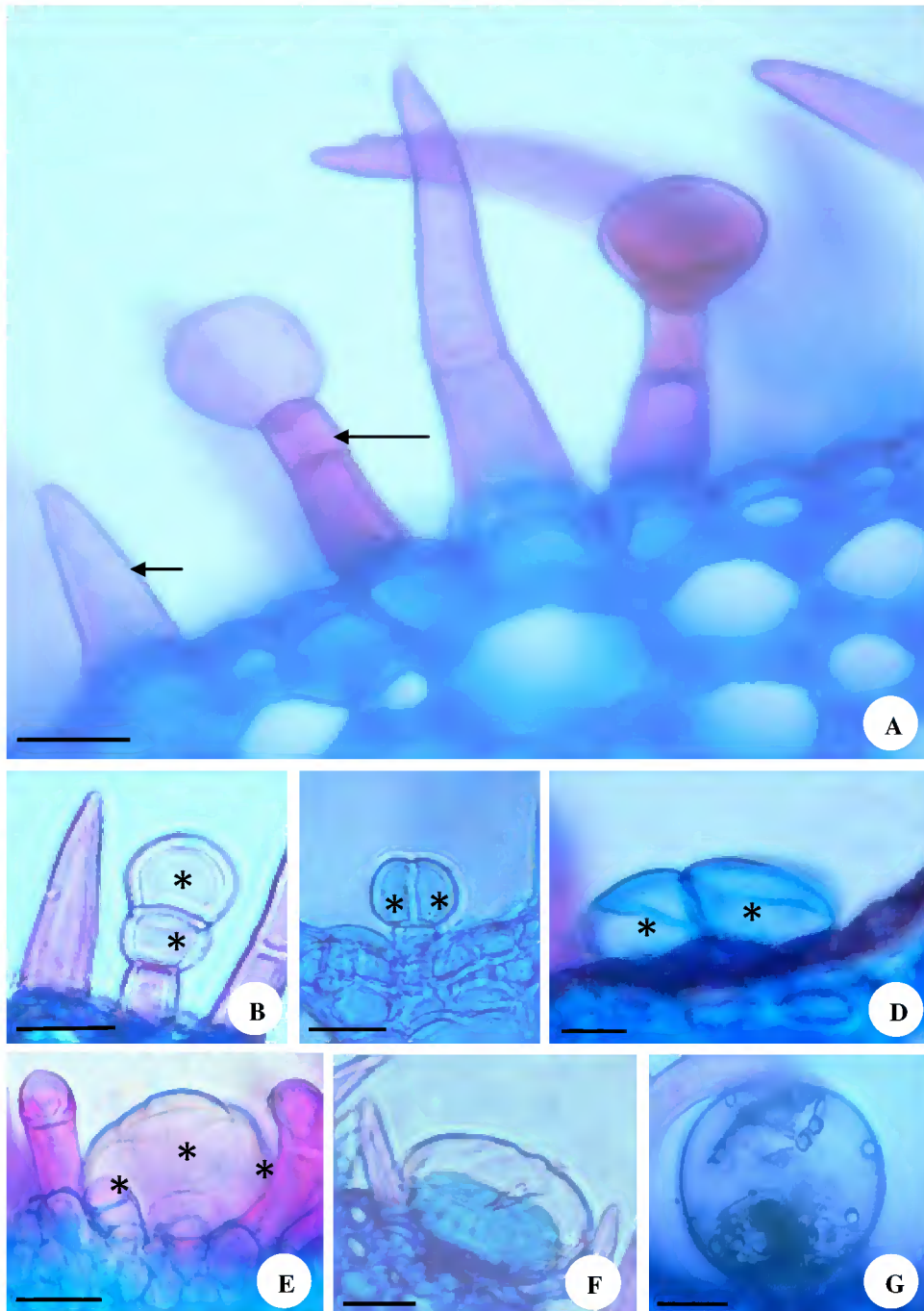


Figura 8: Fotomicrografia das secções transversais dos tipos de tricomas presentes na superfícies caulinares e foliares de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Tipo I- seta menor, Tipo V- seta maior. **B:** Tipo VII. **C:** Tipo VIII. **D:** Tipo IX em estágio secretor inicial. **E- F:** Tipo IX em estágio secretor com cutícula distendida. **F:** Tipo X com cutícula distendida. **Barras:** A: 60 μ m. B-F: 40 μ m. G: 30 μ m.

4.2.2.2. Distribuição dos Tricomas

Os tricomas encontrados em *Vitex agnus-castus* L. estão distribuídos de forma aleatória e abundante por todo o indumento dos órgãos vegetativos aéreos, sendo raros aqueles localizados apenas em uma área específica (Tab. 1).

Tabela 1: Distribuição dos tipos de tricomas nos órgãos vegetativos aéreos de *Vitex agnus-castus* L.

TRICOMA		FOLHA					CAULE
		Face Adaxial	Face Abaxial	Nervura Central	Pecíolo	Peciólulo	
Tector	Tipo I	+	+	+	+	+	+
	Tipo II	+	-	-	-	-	-
	Tipo III	+	+	+	+	+	+
Glandular	Tipo IV	+	+	+	+	+	+
	Tipo V	+	+	+	+	+	+
	Tipo VI	-	-	-	+	+	+
	Tipo VII	-	-	-	+	+	+
	Tipo VIII	-	-	-	+	+	+
	Tipo IX	+	+	+	+	+	+
	Tipo X	+	+	+	+	+	+

Nota: Presente (+), Ausente (-).

No limbo foliolar a distribuição dos tricomas se mantém visualmente uniforme do primeiro ao nono nó examinado, sendo predominante na face adaxial a presença do tricoma tipo I (Fig. 9A) e na face abaxial o tipo III (Fig. 9B).

Contudo, no pecíolo, peciólulo e caule há uma diminuição gradativa de alguns tipos de tricomas à medida que a região analisada distancia-se do ápice caulinar. No pecíolo e peciólulo dos três primeiros nós, por exemplo, há um forte adensamento do tricoma do tipo III, o que dificulta a visualização das células epidérmicas e demais apêndices (Fig. 9C), fator que impossibilita a certeza da confirmação de presença ou ausência de determinado tipo de tricoma nessas regiões. Entretanto, a partir do quarto nó o tipo III passa a ser menos frequente,

deixando os demais tipos mais aparentes e facilmente identificáveis (Fig. 9D). No quinto nó nota-se, visualmente, uma maior presença dos tricomas glandulares capitados, sobretudo do tipo V (Fig. 9E), permanecendo assíduos, juntamente com os tipos I, IX e X, até o nono nó (Fig. 9F). Percebe-se assim, que no pecíolo e peciólulo, apesar da redução de alguns tipos, os tricomas tectores e glandulares possuem presença significativa até o último nó analisado.

No caule, no entanto, a quantidade de tipos de tricomas sofre uma redução significativa ao longo dos entrenós. Até o quarto entrenó, por exemplo, os tectores dos tipos I e III e glandulares dos tipos IX e X são bastante representativos (Fig. 10A) e, assim como ocorre no pecíolo e peciólulo, essa concentração elevada dificulta a completa visualização e consequente descrição dos tricomas. No quinto entrenó há uma aparente redução do tector III, fator que permite a visualização, principalmente, dos tipos IX e X (Fig. 10B). Do sexto ao nono entrenó analisado, nota-se que os tricomas glandulares vão tornando-se escassos ficando predominantes os tectores do tipo I (Fig. 10C, D, E, F).

Em relação aos estágios de desenvolvimento dos tricomas glandulares, estes ocorrem simultaneamente em um mesmo nó ou entrenó. Os capitados do tipo V, por exemplo, apresentam estágio pré-secretor, caracterizado pelo tamanho reduzido da cabeça glandular, ocorrendo na mesma região que aqueles em estágio secretor (Fig. 11A). Nos tricomas capitados o secretor é caracterizado pela distensão da cutícula ocorrendo no ápice da cabeça glandular (Fig. 11B). Quanto aos peltados, é possível observar que o tipo X possui estágio pré-secretor caracterizado pela visualização nítida das células do tricoma (Fig. 11C), o secretor apresenta aspecto túrgido identificado pela distensão da cutícula (Fig. 11D, E) e o pós-secretor caracterizado pela cutícula rompida lateralmente como em uma concha (Fig. 11F).

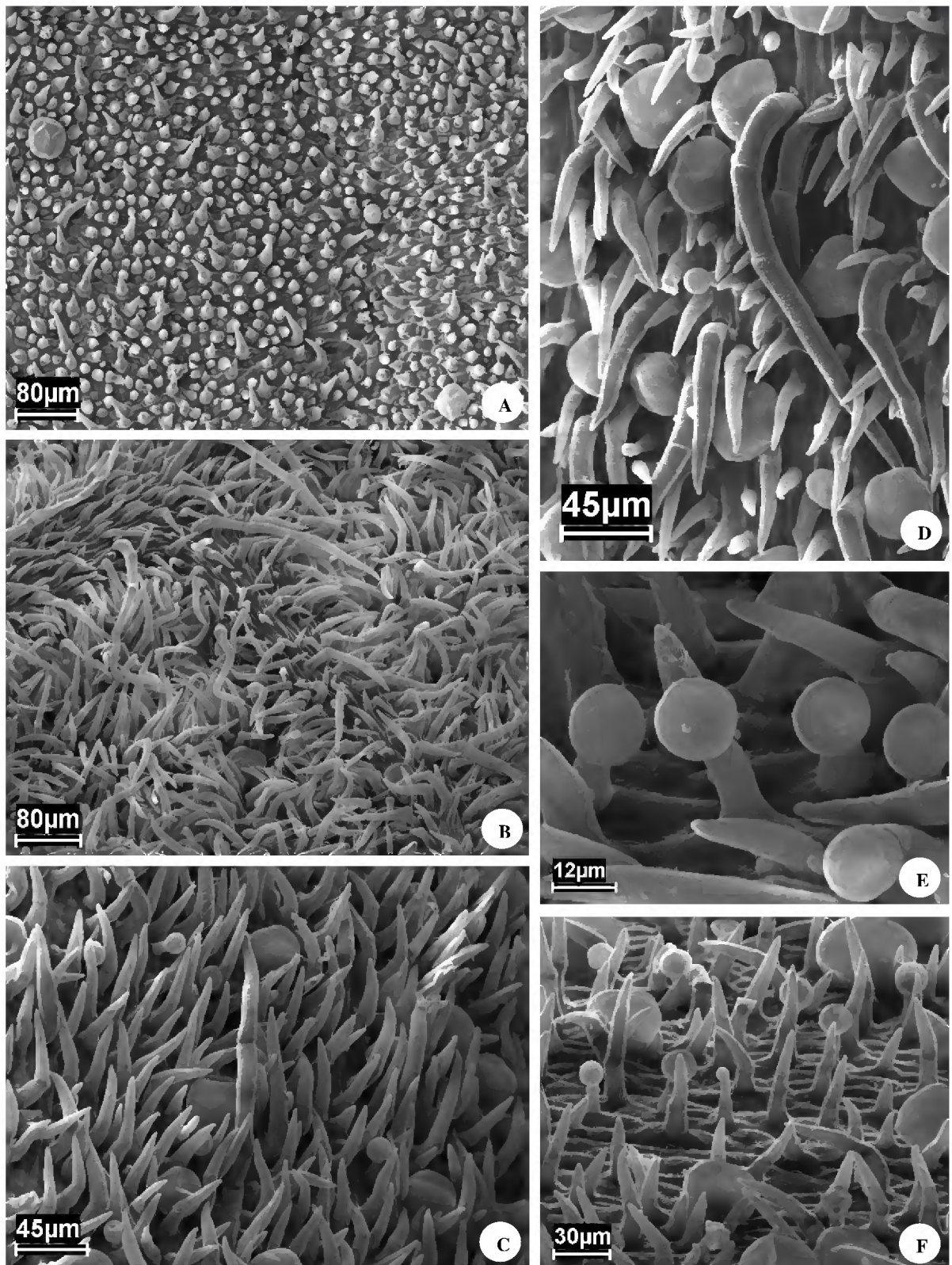


Figura 9: Eletromicrografia das superfícies foliares de *Vitex agnus-castus* L. **A-B:** Limbo foliolar. **A:** Face adaxial. **B:** Face abaxial. **C-F:** Imagens equivalentes do pecíolo e peciólulo. **C:** 3° Nó. **D:** 4° Nó. **E:** 5° Nó. **F:** 9° Nó.

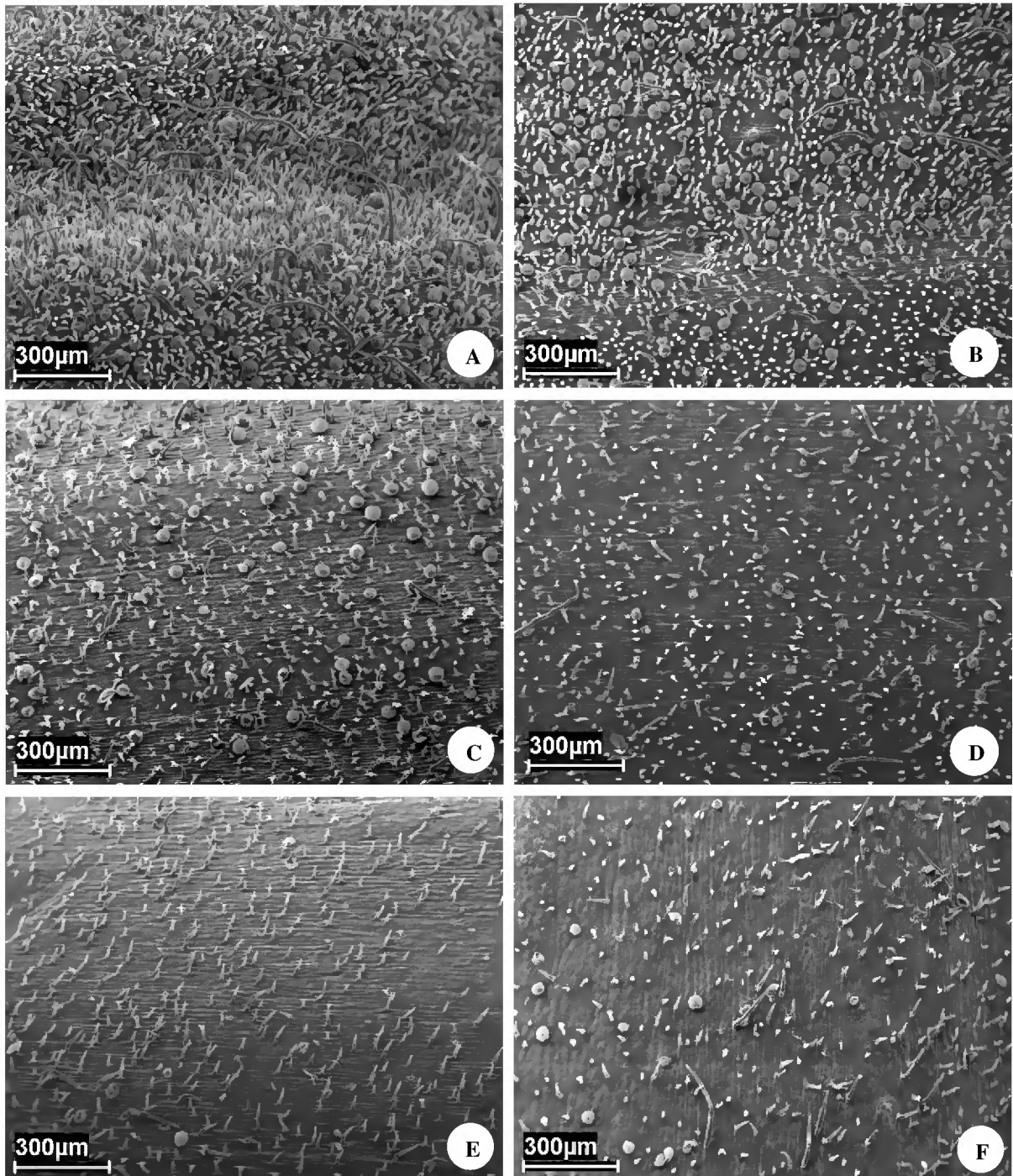


Figura 10: Eletromicrografia das superfícies caulinares de *Vitex agnus-castus* L. **A:** 4º Entrenó. **B:** 5º Entrenó. **C:** 6º Entrenó. **D:** 7º Entrenó. **E:** 8º Entrenó. **F:** 9º Entrenó.

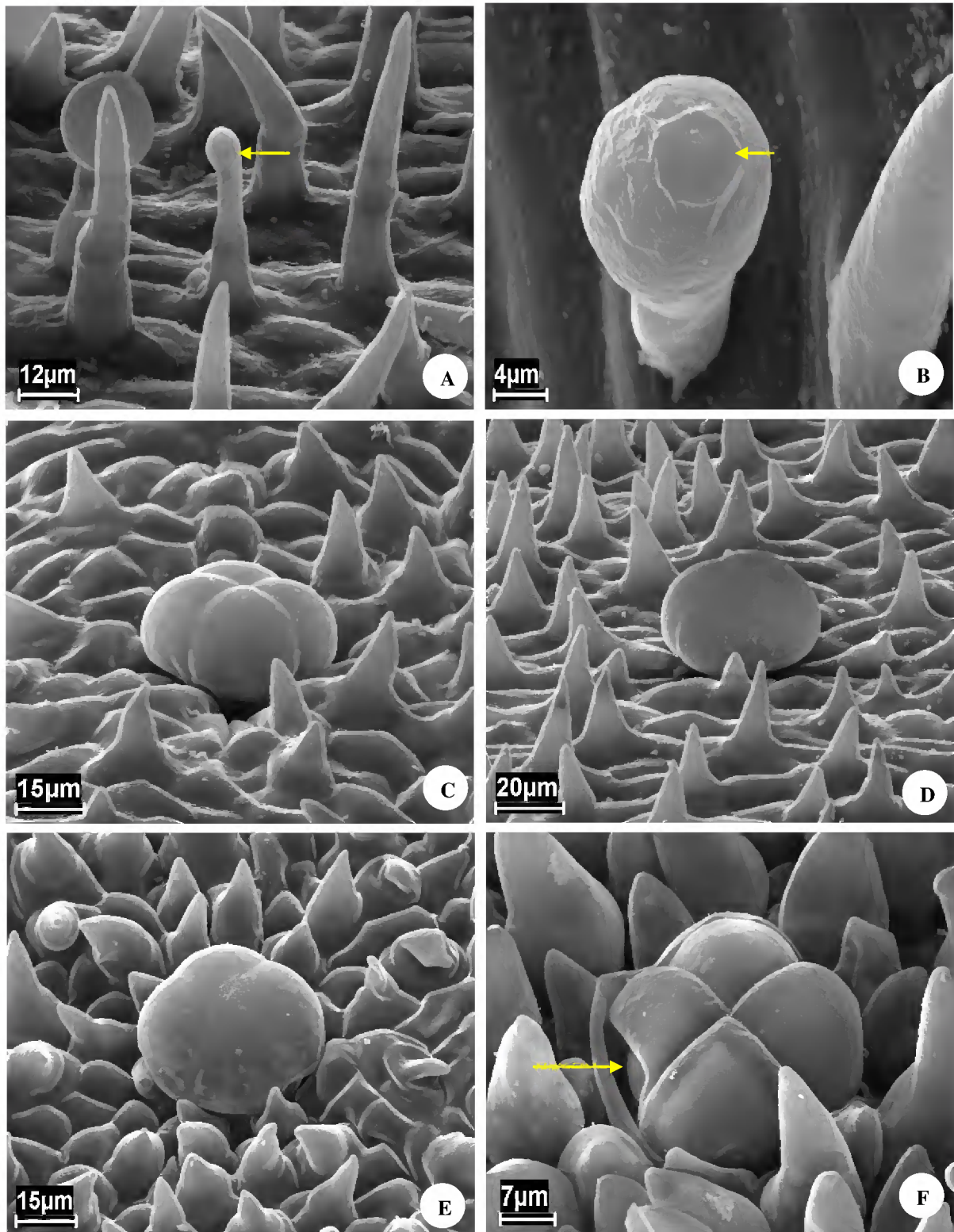


Figura 11: Eletromicrografia dos tipos de tricomas glandulares de *Vitex agnus-castus* L. em diferentes estágios de desenvolvimento. **A- B:** Tricoma capitado do tipo V. **A:** Estágio pré-secretor, seta. **B:** Estágio secretor, seta-detalhe da distensão da cutícula. **C-F:** Tricoma peltado do tipo IX. **C:** Estágio pré-secretor. **D- E:** Estágio secretor. **F:** Estágio pós-secretor, seta- detalhe da cutícula rompida.

4.2.3. Mesofilo e Nervura Principal

O mesofilo de *Vitex agnus-castus* L. é dorsiventral em todas as regiões analisadas. Logo abaixo da epiderme adaxial encontra-se uma camada de células semelhantes as células epidérmicas, podendo corresponder a uma provável hipoderme; em seguida observa-se 2-4 camadas de parênquima paliçádico e 1-2 camadas de parênquima lacunoso, com poucos espaços intercelulares (Fig. 12A). Esses tecidos são interrompidos por nervuras secundárias, formadas por feixe vascular colateral com extensões parenquimáticas de bainha (Fig. 12B). Em todas as regiões a margem do mesofilo possui 2-3 camadas de colênquima angular/anelar, 2-3 camadas de parênquima paliçádico na face adaxial e 1-2 camadas de parênquima lacunoso na abaxial e um feixe vascular colateral envolto por bainha parenquimática (Fig. 12C) e acompanhado por fibras (Fig. 12D).

A nervura principal possui, em todas regiões, secção plano convexo com projeção voltada para a face abaxial (Fig. 13A, C, E). Na região apical encontra-se 4-6 camadas de colênquima anelar/angular, ocupando quase toda a extensão do córtex (Fig. 13B), já nas regiões mediana e basal, esse tecido possui 1-2 camadas. O córtex da nervura tem seu número de camadas de células aumentado à medida que a secção aproxima-se da porção basal. Quanto ao feixe vascular, este é em arco aberto, bicolateral em todas as regiões, com floema interno fragmentado nas regiões mediana (Fig. 13D) e basal (Fig. 13F). Nesta última região, o feixe é envolvido por uma bainha espessa de fibras, que através da separação dos elementos celulares é possível observar que possuem aspecto filiforme (Fig. 14A), os elementos de vaso possuem parede secundária dos tipos helicoidal (Fig. 14B) e paredes pontuadas, com pontoações elípticas (Fig. 14C, D).

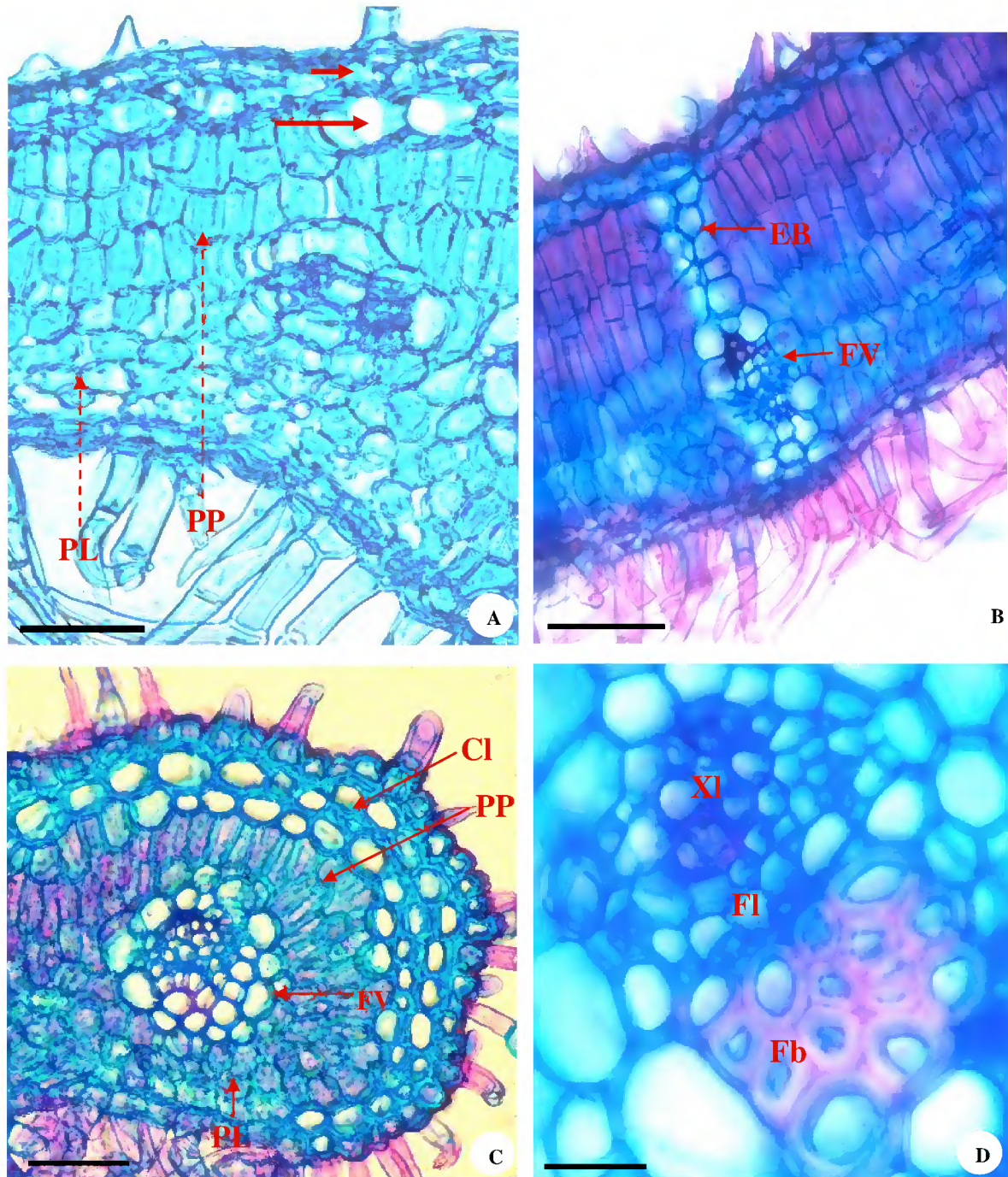


Figura 12: Fotomicrografias das secções transversais do limbo foliar de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Mesofilo dorsiventral, seta menor- epiderme, seta maior- extrato de células localizadas abaixo da epiderme. **B:** Nervura secundária com extensão de bainha. **C:** Margem foliar. **D:** Detalhe do feixe vascular da margem. **Barras:** **A:** 150 μm , **B:** 80 μm . **C:** 40 μm . **D:** 20 μm . **CI-** colênquima, **EB-** Extensão de bainha, **Fb-** Fibras. **FI-** Floema, **FV-** Feixe vascular **PP-** Parênquima paliçádico, **PL-** Parênquima Lacunoso, **XI-** Xilema.

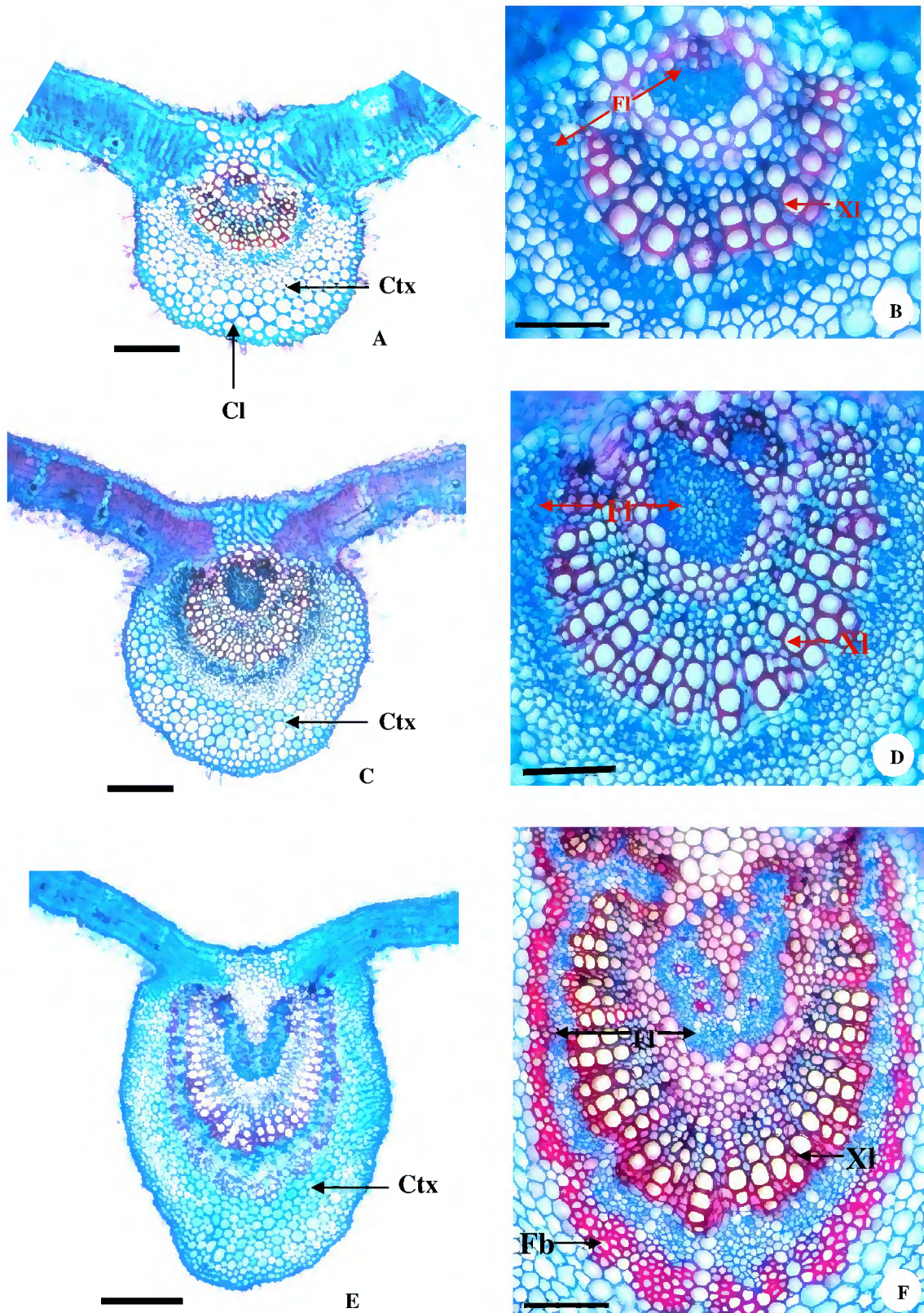


Figura 13: Fotomicrografias das secções transversais em diferentes regiões da nervura principal do folíolo de *Vitex agnus-castus* L.: **A-B:** Região apical. **C-D:** Região mediana. **E-F:** Região basal. **Barras:** A, C, E: 200 μm. B, D, F: 40 μm. Ctx- Córtecx, Fb- Fibras, Fl- Floema, Xl- Xilema.

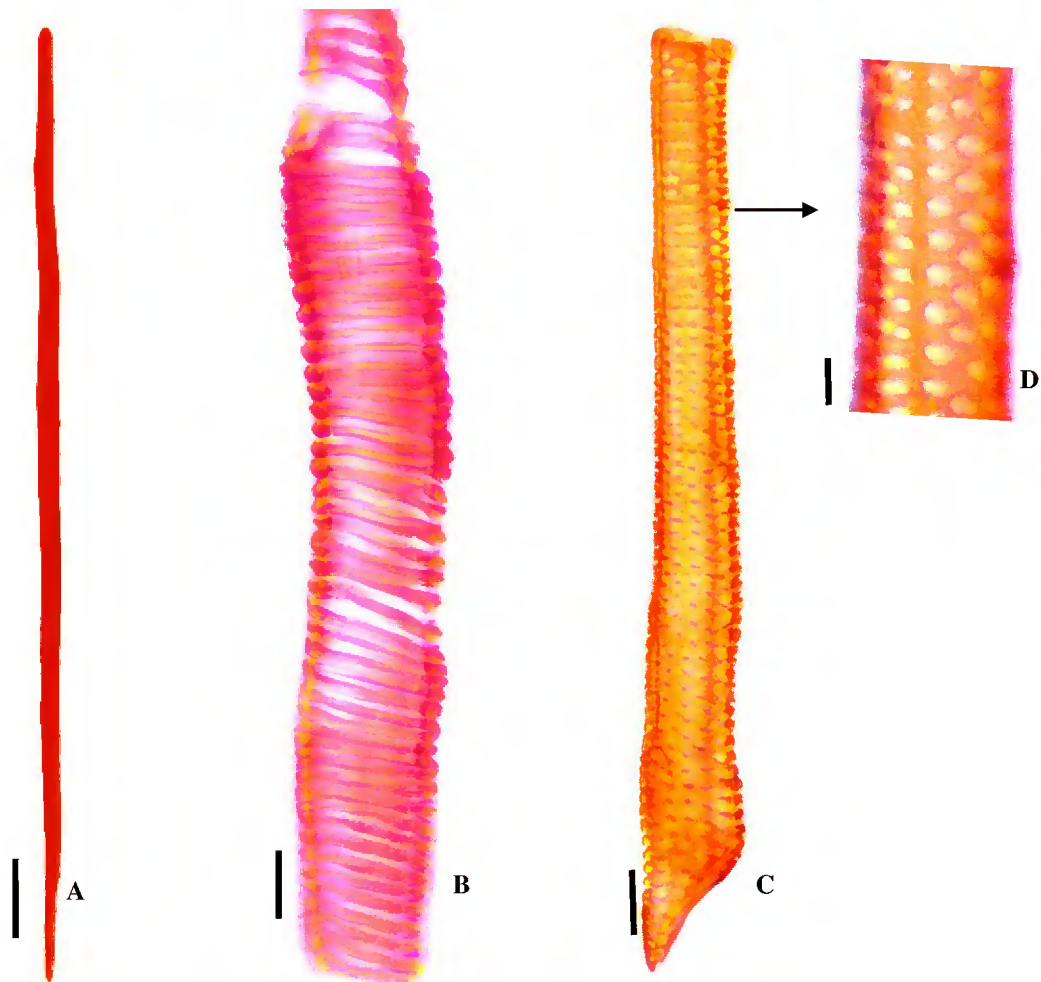


Figura 14: Fotomicrografias dos elementos celulares encontrados em macerado da nervura principal do folíolo de *Vitex agnus-castus* L.: **A:** Fibra. **B- D:** Elemento de vaso. **B:** Parede secundária helicoidal. **C:** Parede secundária pontoada. **D-** detalhe das pontoações elípticas. **Barras:** 300 μ m.

4.2.4. Pecíolo e Pulvino

O pecíolo, em secção transversal, possui aspecto biconvexo (Fig. 15A) e o pulvino aspecto circular (Fig. 15B). Ambos possuem epiderme com células espessas, de formato oval, heterodimensionais e coberta por tricomas. Em seguida está 3-9 camadas de colênquima anelar/angular, distribuídas irregularmente (Fig. 15C). A região cortical é reduzida no pecíolo (Fig. 15A) e ampla no pulvino (Fig. 15B). O feixe vascular maior, localizado na porção central, é bicolateral no pecíolo, com floema interno fragmentado (Fig. 15A) e concêntrico anficrival no pulvino (Fig. 15B). No pecíolo, assim como no pulvino, o xilema apresenta maturação centrífuga, traqueídes de espessamento parietal anelar, helicoidal e pontuada (Figs. 15, D, E), além de floema externo acompanhado por ilhas de fibras espessadas (Figs. 15F, G). No pulvino, é possível observar grãos de amido, dispostos em pequenos grupos nas camadas mais internas do córtex (Figs. 15H, I). A medula, ao contrário da região cortical, é ampla no pecíolo (Fig. 15A) e reduzida no pulvino (Fig. 15B). É formada por células parenquimáticas, heterodimensionais, de paredes retas, delgadas e com espaços intrecelulares (Fig. 15J).

Os feixes menores, localizados próximo a medula com disposição latero-laterais, também chamados de traços foliares, possuem organização concêntrica anficrival. Contudo, no pecíolo, o floema circunda o xilema de forma gradual, ou seja, na região mais apical do pecíolo (próximo ao limbo foliolar) o floema contorna o xilema parcialmente (Fig. 15L) já na porção mediana esse contorno passa a ser completo, e eventualmente o floema une o feixe menor ao maior (Fig. 15M). No pulvino, no entanto, há o envolvimento completo do xilema pelo floema e os feixes menores encontram-se totalmente separados do feixe maior (Fig. 15N).

4.2.5. Pecíólulo e Pulvínulo

O pecíólulo, em secção transversal, possui aspecto circular (Fig. 16A) e o pulvínulo obtuso triangular (Fig. 16B). Ambos apresentam células epidérmicas ovais, espessadas, semelhantes as observadas no pecíolo e pulvino, cobertas por tricomas. O córtex é amplo, o feixe vascular é bicolateral com floema interno fragmentado em dois grupos (Figs. 16C, D) e os traços foliares são pouco nítidos. As fibras que acompanham o floema externo apresentam espessamento apenas no pecíólulo (Fig. 16D).

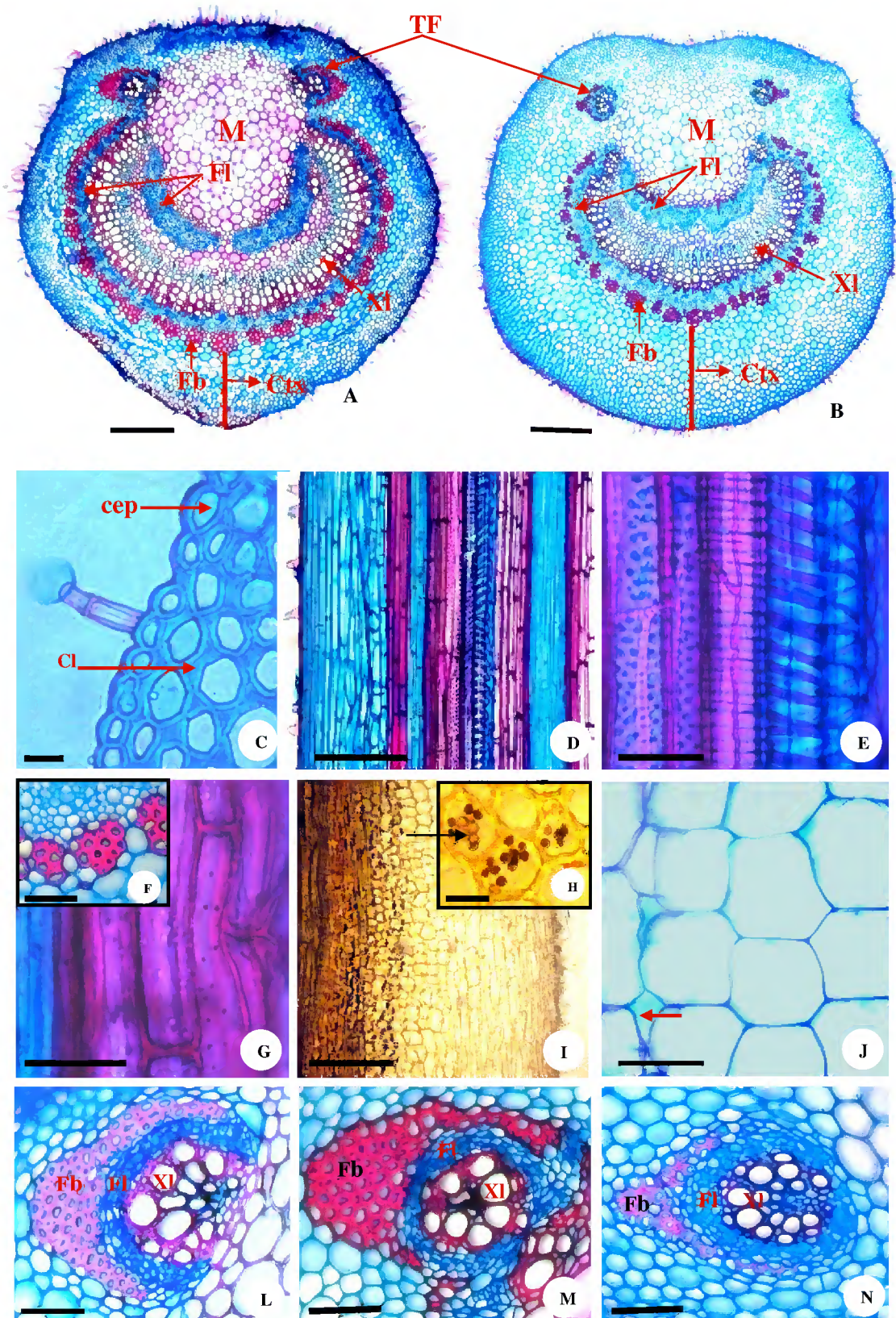


Figura 15: Fotomicrografias das secções transversais e longitudinais do pecíolo e pulvino de *Vitex agnus-castus* L. **A:** Pecíolo. **B:** Pulvino. **C:** Células epidêmicas, seguido de colênquima. **D:** Organização dos tecidos em vista longitudinal. **E:** Espessamentos parietais do xilema. **F- G:** Fibras espessadas. **H- I:** Grãos de amido dispostos nas camadas de células mais internas do córtex. **J:** Medula- destaque para os espaços intercelulares- seta. **L-N:** Traços foliares. **L:** Região apical do pecíolo. **M:** Região mediana do pecíolo. **N:** Região do pulvino. **Barras:** **A-B:** 300 μm . **C, E:** 40 μm . **D, I:** 80 μm . **E, F, G, H, J:** 30 μm . **L-N:** 30 μm . **Ctx-** córtex, **Fb-** Fibras, **FI-** Floema, **M-** Medula, **XI-** Xilema.

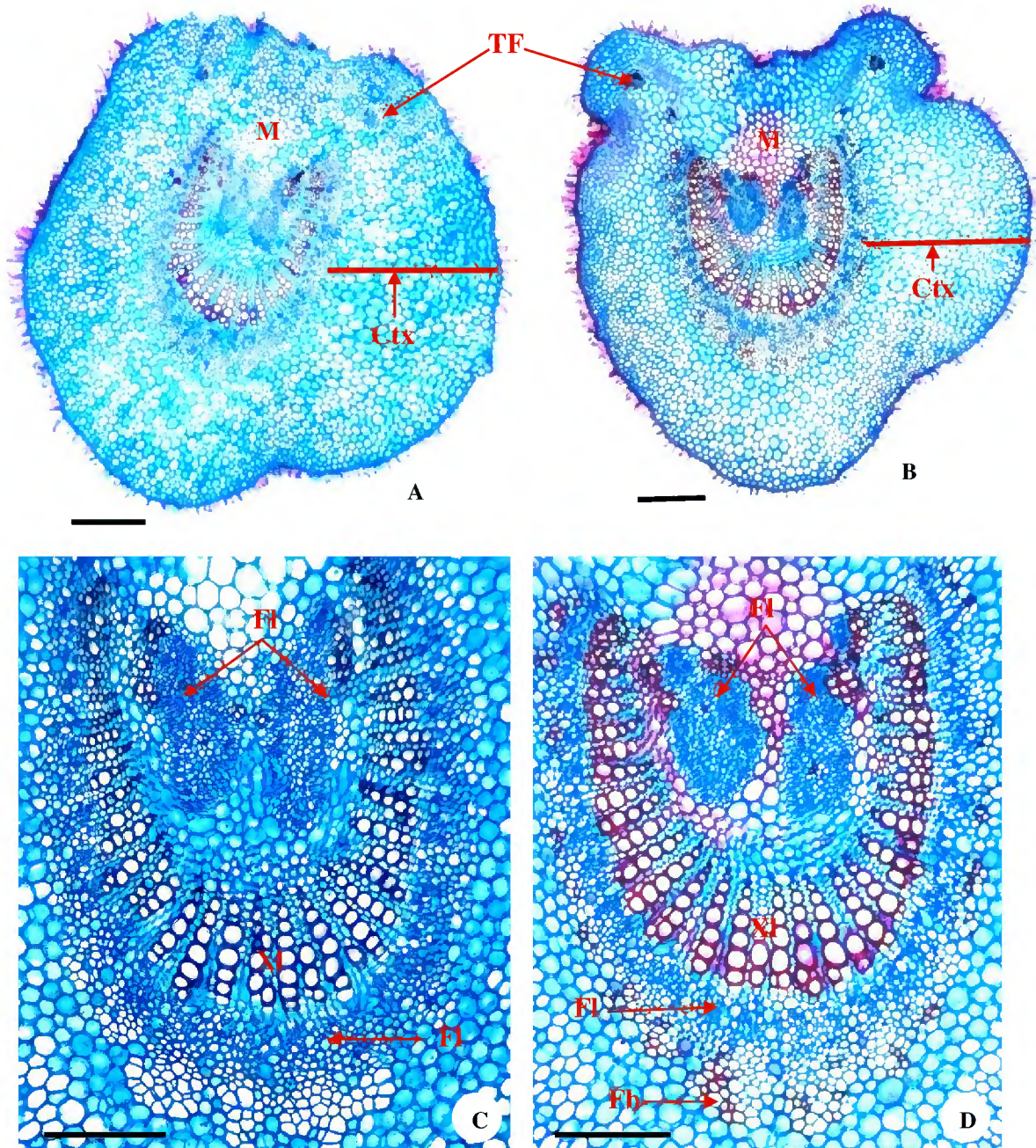


Figura 16: Fotomicrografia das secções transversais do peciólulo e pulvínulo de *Vitex agnus-castus* L.: **A:** Peciólulo. **B:** Pulvínulo. **C:** Feixe vascular central do peciólulo. **D:** Feixe vascular central do pulvínulo, **Barras:** A- B: 300 μ m. C: D: 40 μ m. Ctx- CórTEX, Fl- Floema, Fb- Fibras, M- Medula, TF- Traço foliar, Xl- Xilema.

4.2.6. Caule

4.2.6.1. Herbáceo

O caule de *V. agnus-castus* L. possui, em secção transversal, formato quadrangular no primeiro e segundo entrenó (Fig.17A, B), porém no terceiro o formato é circular (Fig. 17C). Em todos os entrenós a epiderme é formada por células ovais e coberta densamente por tricomas, sobretudo no primeiro entrenó. Até o segundo entrenó é possível verificar a presença de colênquima angular/anelar abaixo da epiderme. A região cortical assim como a medula, é formada por células poligonais e heterodimensionadas. O feixe vascular é único, fechado, colateral, disposto ao redor da medula, comumente denominado de eustelo (Figs. 17A, B, C).

No primeiro entrenó, observa-se que a maturação do xilema ocorre de forma centrífuga, ou seja, do centro para a periferia (Fig. 17D). No segundo entrenó, entre o colênquima e a região externa do córtex, percebe-se a instalação do felogênio que originará a periderme, esta possui uma camada de células alongadas e reconhecidas como as células do felema. Nota-se ainda no segundo entrenó, uma bainha contínua de fibras em torno do feixe vascular (Fig. 17E). No terceiro entrenó nota-se que a periderme aumenta o número de camadas de células e as fibras estão dispostas em grupos ao redor do feixe vascular (Fig.17F). É possível observar que o xilema apresenta poros com arranjo difuso com placas de perfuração simples (Fig. 17G) e raramente escalariforme (Fig. 17H).

4.2.6.2. Lenho

O lenho de *V. agnus-castus* L., apresenta macroscopicamente, camadas de crescimento pouco distintas, individualizadas por zonas fibrosas transversais mais escuras. Os poros são visíveis somente com o auxílio de lente de 10x, de arranjo difuso, placa de perfuração simples, linhas vasculares retilíneas em secção tangencial. Parênquima axial visível somente sob lente de 10x. Raios visíveis a olho nu em seção transversal e tangencial, não estratificado, espelhado dos raios contrastados. Microscopicamente, contata-se que os vasos são predominantemente solitários (77%) seguido de múltiplos de dois (18%) com contorno circular; e parênquima axial paratraqueal escasso (Fig. 18A).

São observados em média 31, 94 poros/mm² com diâmetro em torno de 90 µm, e comprimento médio de 282,5 µm (Tab. 2). Pontoações intervasculares alternas (Fig. 18B), pontoações guarneçadas ausentes, com pontoações rádio-vasculares semelhantes às

intervasculares em tamanho e forma, no raio da célula. Fibras espessas, com células do tipo fusiforme sem pontuações (Fig. 18C, D) possuem comprimento médio de 928,6 μm , não septadas, espessura da parede em média de 6,61 μm , espessura média do lume 3,25 μm (Tab.3).

Há o predomínio de raios bisseriados (88%), ocorrendo também raios unisseriados (2%) e trisseriados (10%) (Fig. 18D), sendo constituídos por células exclusivamente procumbentes, com 1-3 células (Fig. 18 E, F), com altura média de 170,8 μm equivalente a média de 17, 98 células, largura média 10,7 μm equivalente em média a 2 células; frequência de aproximadamente 25,68 raios/mm linear (Tab. 4), raios agregados ausentes, células envoltentes, células radiais perfuradas, células radiais disjuntas, ausentes. Elementos secretores e variação cambial, células oleríferas e mucilaginosas, ausentes. Canais intercelulares axiais em linhas tangenciais longas. Floema incluso difuso. Inclusões minerais: cristais prismáticos, drusas, outros tipos de cristais, sílica e outros caracteres, ausentes.

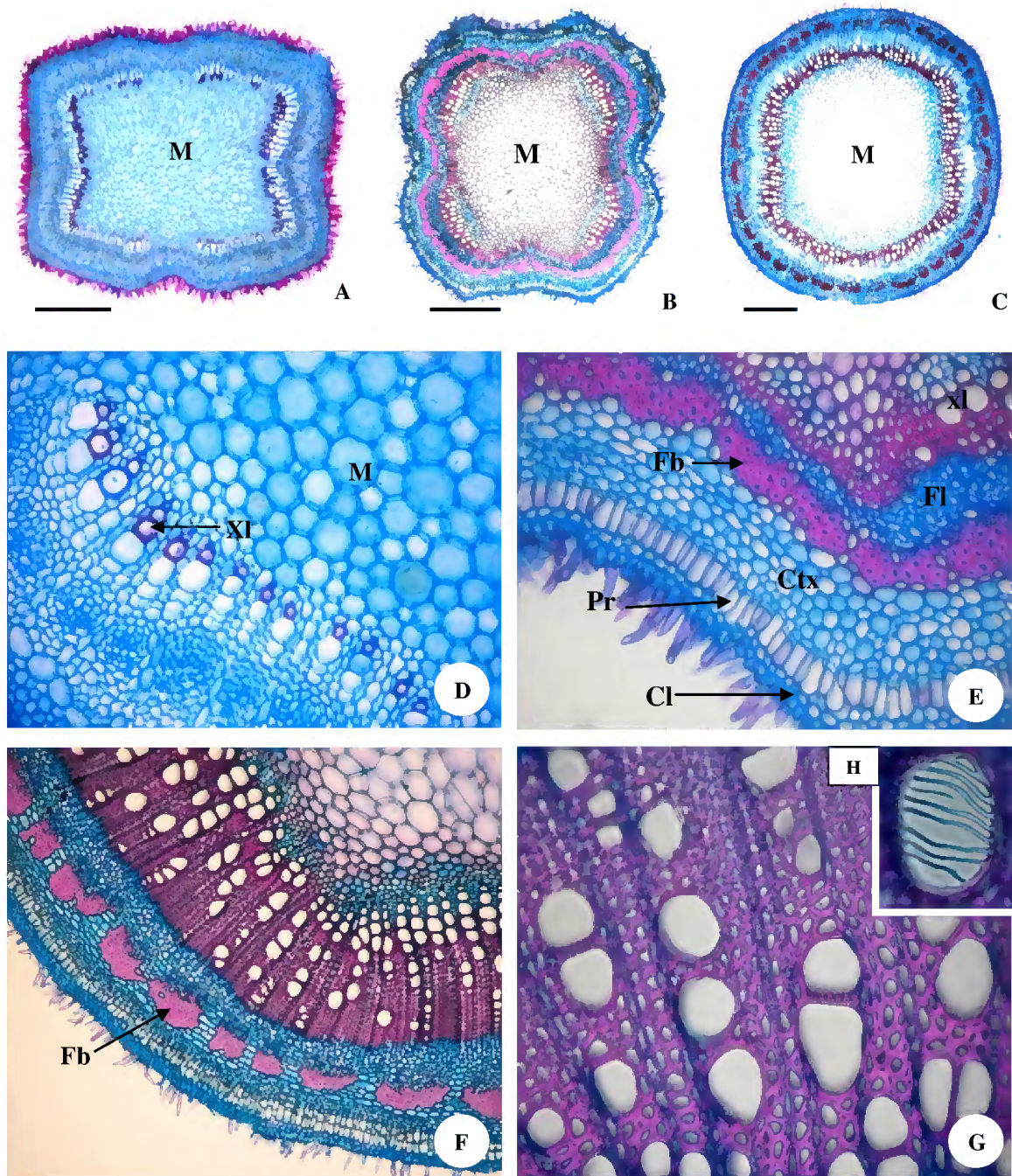


Figura 17: Fotomicrografias das secções transversais dos entrenós caulinares de *Vitex agnus-castus* L.: A-C: Vista geral. A: 1º entrenó. B: 2º entrenó. C: 3º entrenó. D: Maturação centrífuga do xilema- seta. E: Periderme e bainha contínua de fibras em torno do feixe vascular. F: Fibras fragmentadas em torno do feixe vascular. G: Arranjo difuso do xilema. H: Placa de perfuração escalariforme. Barras: 51, 52, 53: 200 µm. 54: 40 µm. 55: 60 µm. 56: 80 µm. 57: 30 µm. 58: 20 µm Cb- câmbio, Cl- colênquima, Ctx- córtex, Fb- Fibras, Fl- Floema, M- Medula, Pr- Periderme. XI- Xilema.

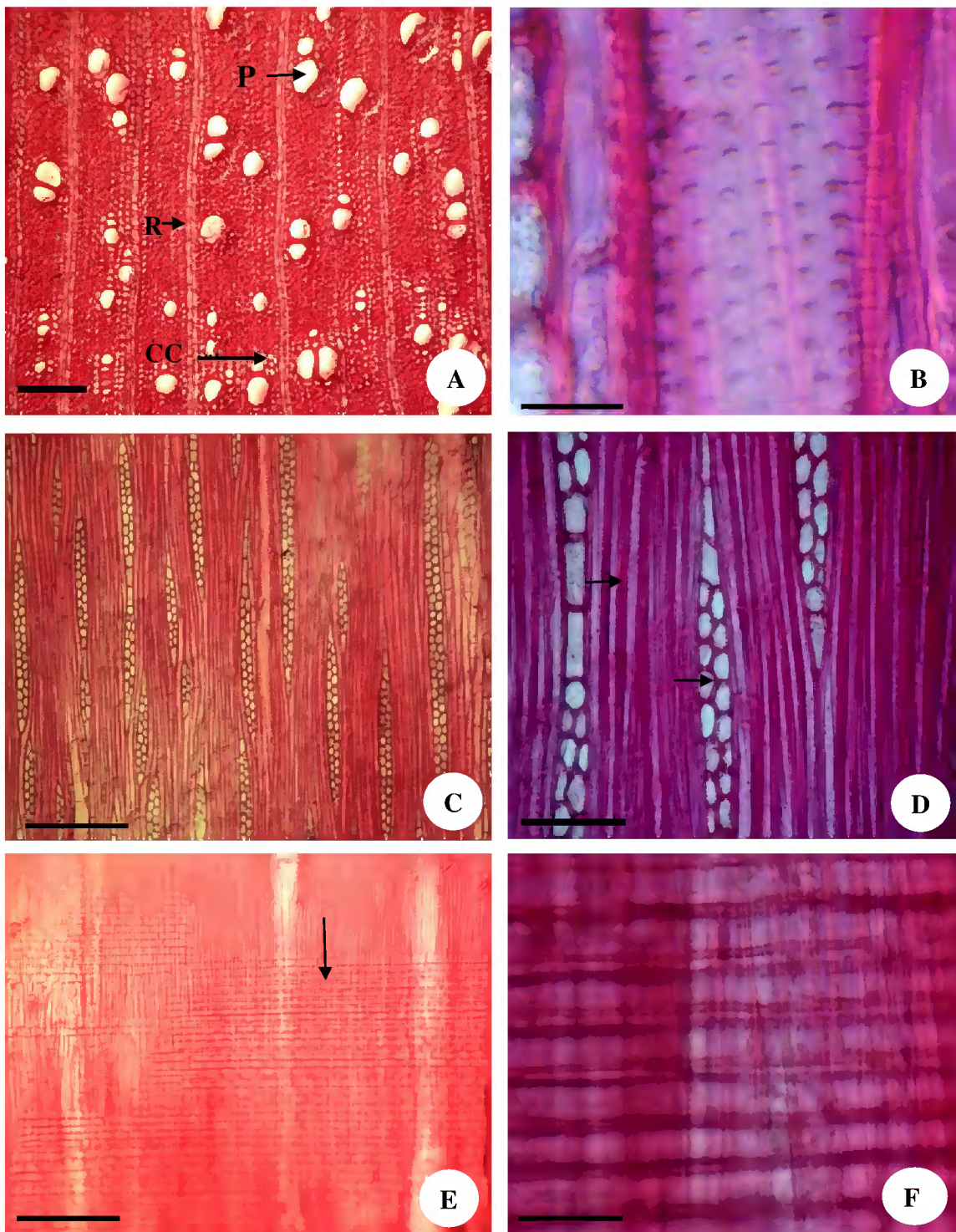


Figura 18: Fotomicrografias das secções do lenho de *Vitex agnus-castus* L. A: Secção transversal evidenciando o arranjo difuso dos poros solitários e a camada de crescimento pouco distinta. B-D: Secções longitudinal-tangencial. B: Pontoções intervasculares alternas. C: Disposição alterna dos raios. D: Seta superior- Fibras, Seta inferior- células heterogêneas do raio. E-F: Secções longitudinal-radial. E: Corpo do raio- seta. F: Detalhe das células procumbentes do raio. Barras: A, C, E-: 80µm. B: 30 µm. D: 40 µm. P- Poro, R- Raio, CC- Camada de crescimento.

Tabela 2: Dados quantitativos de vasos/poros da espécie *V.agnus-castus* L.

Comprimento (μm)				Diâmetro (μm)				Números de poros / mm			
min	med	max	DP	min	med	max	DP	min	med	max	DP
130	282,5	405	56,96	40	90	205	33,10	23	31,94	46	5,98

Tabela 3: Dados quantitativos das fibras da espécie *V.agnus-castus* L.

Comprimento (μm)				Espessura do lume (μm)				Espessura da parede (μm)			
min	med	max	DP	min	med	max	DP	min	med	max	DP
650	928,6	1800	197,02	1,4	3,25	10,36	1,8	2,24	6,61	11,2	2,4

Tabela 4: Dados quantitativos dos raios da espécie *V.agnus-castus* L.

Altura (μm)				Altura (cel.)				Largura (cel.)				Largura (μm)				Raios/mm linear			
min	med	max	DP	min	med	max	DP	min	med	max	DP	min	med	max	DP	min	med	max	DP
95	170,8	300	51,98	7	38	17,98	8,10	1	2	3		7	10,7	15		18	31	25,68	3,31

5. DISCUSSÃO

Os caracteres morfológicos descritos para a espécie *Vitex agnus-castus* L. estão de acordo com as características verificadas por Souza e Lorenzi (2008) para a família Verbenaceae. Esses autores afirmaram que o gênero *Vitex* L. representa o raro grupo de vegetais da família que possui folhas compostas. Chantaranonthai et al. (2004) ratificaram essa informação nas descrições morfológicas de *Vitex negundo* L., *Vitex cymosa* Bertero ex Spreng. e *Vitex scabra* Wall. ex Schauer, além de Alves (2006) em *Vitex megapotamica* (Spreng) Moldenke. No entanto, Sá Barreto (2004) afirmou serem simples as folhas de *Vitex guadneriana* Schauer, contrariando, dessa forma, os relatos de Souza e Lorenzi (2008) para o gênero.

Como é de se esperar morfológicamente o comprimento médio do pecíolo é maior nas folhas inseridas em nós mais distantes do ápice caulinar, o que projeta as folhas para a maior absorção de luz. Adicionalmente, os entrenós são mais longos à medida que se afastam do ápice caulinar, permitindo uma maior distância entre duas folhas opostas consecutivas e, portanto, diminuindo o sombreamento de uma folha sobre outra.

No limbo foliolar, anatomicamente, considera-se o formato curvo das células epidérmicas, comum a ambientes sombreados. Alves (2006) relatou que o contorno sinuoso ou curvo permite uma maior flexibilidade e extensão das células, o que favorece as folhas de sombra que normalmente necessitam de uma maior área foliar para auxiliar na captura de luz. Esse mesmo padrão de células foi verificado em outras espécies da família Verbenaceae, como *Lippia sidoides* Cham. (Nunes et al., 2000), *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Milaneze-Gutierrez et al., 2003) e *Vitex megapotamica* (Spreng.) Mold. (Alves, 2006)

Os estômatos encontrados exclusivamente na epiderme abaxial do folíolo classificam a folha como hipoestomática, fator que corrobora a afirmação feita por Cantino (1990) de que a maioria das espécies Verbenaceae, sobretudo, aquelas pertencentes ao gênero *Vitex* L., possuem folhas com essa classificação estomática. Quanto ao tipo de estômatos, Cantino (1990) afirmou que além do anomocítico o diacítico é igualmente comum em Verbenaceae.

Esau (1974) assegurou que a posição dos estômatos é, eventualmente, analisada em função de adaptações ecológicas da planta. Estômatos em depressões ou criptas, por exemplo, representam, conforme Metcalfe e Chalk (1950) e Cantino (1990), uma proteção a perda de água, característica comum em espécies do gênero *Vitex* L. Em *V. agnus-castus* L., apesar das ondulações na superfície abaxial do folíolo, esse caráter não foi confirmado, porém o forte adensamento de tricomas encobrindo os estômatos é, considerando Cutter (1986), um

indicativo de proteção à perda excessiva de água pela planta, pois impede a incidência direta dos raios solares sobre os estômatos, diminuindo desse modo, a perda de água por transpiração. De acordo com Esau (1974), estudos feitos no sentido de verificar o papel desempenhado pelos tricomas em relação à perda de água, apresentaram resultados variáveis, mas segundo a autora, além da proteção estomática, os tricomas desempenham a função de isolar o mesofilo do calor excessivo.

Segundo Metcalfe e Chalk (1950), é comum encontrar tricomas em espécies da família Verbenaceae. Nessa pesquisa foi possível observar a ocorrência de dez tipos de tricomas entre tectores e glandulares. O tricoma tector do tipo II, descrito nesse estudo, foi igualmente mencionado em *Verbena officinalis* L. (Azimi et al., 2006) e em *Lantana camara* L., (Milaneze-Gutierrez et al., 2007) todos exclusivamente na face adaxial do limbo analisado. Os tipos IV, V, VIII e IX foram relatados por Azimi et al. (2006) nas espécies *Vitex* sp. L. *V. negundo* L., *V. agnus-castus* L., *V. trifolia* L.

Dogan et al. (2008) estudando o caule e folha de *V. agnus-castus* L. relataram apenas a presença de tricomas tectores, fator que contribuiu para se questionar a ausência dos tricomas glandulares na espécie, o que provavelmente pode ter sido causada pelo uso inadequado de fixador para tais estruturas, uma vez que, no presente trabalho os tricomas glandulares foram melhor preservados em amostras fixadas em FNT. Pode-se sugerir ainda, influência de fatores ambientais ou até mesmo falhas na identificação do táxon.

De acordo com Uphof (1962), os tricomas glandulares estão relacionados à secreção de uma variedade de substâncias do metabolismo secundário, como taninos, mucilagem, substâncias resinosas e óleos essenciais. E, segundo esse autor, as características peculiares das células que as produzem variam de acordo com as substâncias produzidas.

Gershenson et al., (1989) e Mccaskill et al. (1992) demonstraram que em *Mentha* L., a biossíntese de óleos essenciais ocorre especificamente em tricomas glandulares peltados. Marin et al. (2006) observaram em *Rosmarinus officinalis* L. a ocorrência de compostos fenólicos também, exclusivamente, nos tricomas peltados. Favorito (2009) observou em *Lippia stachyoides* Cham. cinco tipos de tricomas glandulares e concluiu que cada composição química encontrada estava relacionada a um tipo de tricoma morfológicamente diferente.

De acordo com Zogbhi et al. (1999), *V. agnus-castus* L. apresenta em sua composição química, substâncias como flavonóides, iridóides, glicosídeos, diterpenos e óleos essenciais (limoneno, cineol, pineno e sabineno). No entanto, não há estudos que esclareçam quais estruturas e qual parte da planta secretam tais substâncias e em que quantidade. Para que isso

ocorra, é necessária a realização de estudos histoquímicos que esclareçam, entre outros fatores, se a diversidade morfológica de tricomas encontrados está relacionada às diferentes substâncias citadas por Zogbhi et al. (1999). Todavia, essa pesquisa possibilita mapear na planta as áreas com maior concentração de tricomas, principalmente glandulares. No caso das folhas, em termos visuais, tanto o limbo quanto o pecíolo e peciólulo, possuem uma quantidade expressiva de tricomas tectores e glandulares em todos os nós analisados, porém, no caule há uma diminuição progressiva a partir o quinto entrenó, sendo bem escassos no nono, o que inviabilizaria uma coleta a partir desse ponto. Em termos qualitativos, de acordo com o inventário realizado, é possível assegurar que o pecíolo, peciólulo e caule apresentam as maiores variedades de tipos de tricomas glandulares em relação ao limbo foliolar. Sendo assim, as regiões mais indicadas para estudo e exploração dos tricomas glandulares.

Ainda, essa pesquisa permite verificar que os estágios de desenvolvimento dos tricomas glandulares ocorrem simultaneamente em um mesmo nó ou entrenó, ou seja, em um mesmo ponto é possível encontrar tipos iguais de tricomas em fase de desenvolvimento diferentes. Fator que apresenta a vantagem de se coletar em qualquer parte da planta amostras para o estudo das diferentes fases de desenvolvimento. No entanto possui a desvantagens de impossibilitar a confirmação de qual ponto da planta possui maior ocorrência de tricomas glandulares em estágio secretor.

Além das observações acerca dos tricomas encontrados, outro ponto a se destacar é referente à camada de células encontradas abaixo da epiderme adaxial, que foi considerada nessa pesquisa como uma provável hipoderme. Keinholz (1926, citado por Metcalfe e Chalk, 1950) alegou que hipoderme é característica dos gêneros *Vitex* L. e *Avicennia* L. Afirmação admitida em estudos de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke (Martins, 2004), *V.gardneriana* Schauer (Sá-Barreto, 2004) e *V. agnus-castus* L. (Dogan et al., 2008). Fahn (1974) enfatizou que somente com estudos ontogenéticos pode-se afirmar se células subepidérmicas são ou não hipoderme, haja vista que, é necessária a confirmação de que as essas células sejam originadas do meristema fundamental, para então serem considerada hipoderme. Assim, pode-se presumir com base na literatura, que a camada de células após a epiderme adaxial seja uma hipoderme, porém, sem confirmação ontogenética.

Logo após a provável hipoderme, encontra-se o parênquima paliçádico em proporções maiores que o parênquima lacunoso, esse com poucos espaços intercelulares. Fahn (1974) salientou que parênquima paliçádico desenvolvido indica uma grande atividade fotossintética e é importante no caso de folhas de sol, por distribuir a luz de maneira uniforme para todas as camadas do órgão. Impressas no mesofilo estão às nervuras secundárias, onde os feixes

apresentam-se envolvidos por camadas de células que se dispõem compactamente, constituindo a bainha do feixe que são ligadas a epiderme por meio de conjunto de células e lembram estruturalmente as células da bainha, que Esau (1974) definiu como extensões de bainha.

De acordo com Mullan (1931, citado por Metcalf e Chalk, 1950), em *Vitex* as extensões de bainha atuam como um tecido armazenador de água. Essas estruturas foram também relatadas em *V. gadneriana* Shauer (Sá-barreto, 2004) e *V. megapotamica* (Spreng.) Mez. (Alves, 2006). Esau (1974) assegurou que a venação menos densa é associada à frequência de extensões de bainha na folha. Na região basal da nervura principal, os grupos de fibras que envolvem o feixe vascular são, segundo Fahn e Cutter (1992), reforços mecânicos que conferem sustentabilidade à folha e reduzem os efeitos danosos produzidos pelo murchamento, como o colapso das células. Metcalfe e Chalk (1950) observaram feixes vasculares centrais acompanhados por esclerênquima em espécies dos gêneros *Baillonia* Bocq., *Casselia* Nees & C. Mart., *Lippia* L., *Petrea* L. e *Verbena* L.

Em *V. agnus-castus* L. o pecíolo, pulvino, peciólulo e puvínulo apresentam feixes vasculares latero-laterais próximos à medula, conhecidos por traços foliares. Essas estruturas foram descritas em estudos peciolares de outras espécies da família Verbenaceae como *V. negundo* L., *V. trifólia* L., *V. agnus-castus* L., *Verbena officinalis* L. (Azimi et al., 2008), *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Milaneze-Gutierrez et al., 2003), *V. gadneriana* Shauer. (Sá-Barreto, 2004), *Lantana camara* L., *L. radula* Sw. (Passos, 2008) e *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Braga et al., 2009). No pecíolo e pulvino encontra-se uma bainha espessa de fibras envolvendo o feixe vascular. Essas fibras, no entanto, são pouco lignificadas no pulvínulo. Esau (1974) afirmou que a pouca lignificação dessas fibras se deve ao fato do pulvínulo estar envolvido nos movimentos foliares, assim sendo, a pouca lignificação ou ausência de fibras em torno do feixe vascular assegura uma maior flexibilidade a estrutura.

O pulvino, assim como o pulvínulo, está envolvido nos movimentos foliares. Esau (1974) afirmou que esses movimentos estão associados a variações de turgor e a concomitantes alterações no tamanho e formato das células do parênquima fundamental dessas estruturas. (Rodrigues e Machado, 2006) contribuíram afirmando que a ocorrência de espaços intercelulares pode facilitar as mudanças na forma e tamanho da célula durante a curvatura do pulvino. A presença de amido nas camadas mais internas do córtex pode, conforme Machado e Rodrigues (2004), determinar a taxa de curvatura dessa estrutura em resposta a estímulos gravitropicos.

Em relação ao caule, o aspecto quadrangular, quando em fase herbácea, nos dois primeiros entrenós corrobora com as observações feitas por Esau (1979) para a família Verbenaceae. Segundo a autora, o formato é em virtude de um considerável desenvolvimento de colênquima nos ângulos. No entanto, em *V. agnus-castus* L. o colênquima ocupa toda a periferia do órgão. Contudo, se observa que é nos ângulos que se inicia o desenvolvimento secundário do xilema, o que nesse caso causaria o formato quadrangular. E posteriormente com o desenvolvimento radial do xilema de forma uniforme, percebe-se o formato circular no órgão. Assim, em *V. agnus-castus* L. o formato quadrangular não estaria relacionado ao desenvolvimento do colênquima e sim do xilema. Esses diferentes formatos do caule foram relatados em estudos de Sá-Barreto (2004) para a espécie *V. gardneriana* Shauer.

Outra característica caulinar importante refere-se à periderme. Nota-se, que entre o colênquima e a camada externa do córtex, há a presença de um conjunto de células alongadas correspondente as células do felema. Considerando Apezato-de-glória e Carmelo-Guerreiro (2006) as células do felema podem ser de diversas formas, inclusive em forma de paliça como é na espécie em questão.

A origem do felogênio, que formará a periderme no caule, é muito variada, mas geralmente forma-se a partir de camadas subepidérmicas, tanto do parênquima como do colênquima. Eventualmente, a epiderme e mais raramente camadas profundas do parênquima cortical ou até mesmo células do floema, podem dividir-se para dar origem ao felogênio (Esau, 1974). Metcalfe e Chalk (1979) consideraram a periderme de origem epidérmica ou subepidérmica como superficial e as demais como periderme profunda. A presença de periderme profunda foi citada por Solereder (1908) e Metcalfe e Chalk (1950) como ocorrentes em Verbenaceae e corroborada em estudos de Bonzani et al. (2003) para as espécies *A. polystachya* (Griseb.) Mold., *Lippia turbinata* Griseb., *L. integrifolia* (Griseb.) Hieron., *L. junelliana* (Mold.) Tronc. e *Lantana camara* L. No entanto, de acordo com a descrição realizada percebe-se que em *V. agnus-castus* L. a periderme é superficial, contrariando dessa forma os relatos de Solereder (1908) e Metcalfe e Chalk (1950) para Verbenaceae.

Em relação ao sistema vascular, este é fechado, colateral, único, contínuo e reconhecido como eustelo, além de ser circundado por bainha fibrosa. Esau (1974) afirmou que o estelo pode ser classificado em tipos que se baseiam principalmente na distribuição relativa dos tecidos vasculares e não vasculares quando examinados em estágio primário. No caso de *V. agnus-castus* L., esse tipo de estelo pode ser classificado, considerando a autora

anterior, como sinfonostelo ou estelo tabular, onde se refere à disposição do tecido vascular ao redor de um centro não vascular, a medula.

No lenho da espécie estudada, o arranjo difuso dos vasos contraria as observações feitas por Metcalfe e Chalk (1950) onde citaram que para Verbenaceae o arranjo semiporoso é o mais frequente. Arranjo difuso foi citado ainda por Roque (2007) em *Gmelina arborea* Roxb. ex Sm. pertencente a família Verbenaceae. Segundo Alves e Angyalossy-Alfonso (2000), o arranjo difuso é comum em angiospermas tropicais.

Nesse estudo foram encontradas placas de perfuração simples e raramente escalariformes. Estas últimas, comuns em espécies de Verbenaceae, sobretudo no gênero *Vitex* L. (Metcalfe e Chalk, 1950). De acordo com (Esau, 1974), as placas de perfuração simples conferem uma maior eficiência na condução de água e íons em relação às placas escalariformes. O parênquima axial escasso de *V. agnus-castus* L., não condiz com a afirmação de Alves e Angyalossy-Alfonso (2002) que alegaram a presença de parênquima axial abundante como uma característica do xilema secundário de plantas de regiões tropicais de baixas latitudes como Norte e Nordeste do Brasil.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação aos aspectos morfológicos, a espécie *Vitex agnus-castus* L. manteve o padrão estabelecido para o gênero quanto ao hábito arbustivo, às folhas oposto-cruzadas e compostas. Como contribuição, essa pesquisa ressaltou a presença de pulvino, pulvínulo e peciólulo em folhas totalmente expandidas. E por serem informações inéditas, além dos morfológicos, os dados anatômicos referentes a essas estruturas foliares contribuíram para o conhecimento do táxon. Especificamente no limbo, perceberam-se características notadamente xeromórficas como parênquima paliádico predominante em relação ao parênquima lacunoso; hipoderme; feixes vasculares com extensões de bainha e presença elevada de tricomas. Assim, de acordo com as características mencionadas e os embasamentos teóricos encontrados na literatura, pode-se presumir que a espécie adapta-se a ambientes xéricos.

Para o caule, além das informações sobre a anatomia da madeira, que em geral conferem com outras espécies da família, essa pesquisa ressaltou elementos peculiares como o formato circular substituindo o quadrangular à medida que o caule torna-se maduro, e ainda a presença de periderme em porções jovens, o que caracteriza a precocidade desse tecido.

Outra importante contribuição creditada a essa pesquisa refere-se ao estudo relativo aos tricomas. Os dados inventariados permitiram afirmar que esses são comuns ao gênero *Vitex*, e apenas o tipo II pode ser usado para identificar o órgão analisado, pois foi encontrado exclusivamente na face abaxial do limbo, ou seja, um tricoma característico da folha. O inventário estrutural revelou ainda que os a fase secretora dos tricomas glandulares ocorre independente da expansão foliar ou caulinar, ou seja, podem ser encontrados tricomas glandulares em estágio secretor tanto em porções vegetais jovens quanto em porções mais amadurecidas.

Esses resultados possibilitaram subsidiar estudos como a fitoquímica e a histoquímica da espécie. Para ambas ciências, o pecíolo, peciólulo e o caule são os mais indicados, pois apresentaram a maior diversidade de tricomas glandulares. No entanto, é necessária a atenção no ponto de retirada das amostras. Por exemplo, porções dos três primeiros nós e entrenós não são recomendadas para a histoquímica em virtude da intensa frequência de tricomas tectores encobrendo e dificultando a visualização dos glandulares, além disso, o excesso de tectores pode dificultar o contato do reagente com os glandulares e interferir no sucesso da reação.

Especificamente no caule, a frequência de tricomas glandulares sofre uma significativa redução a partir do sexto entrenó, portanto, seria desaconselhável uma retirada de amostras a partir desse ponto. Portanto, indicam-se para a fitoquímica, amostras retiradas até o quinto nó e entrenó, e para a histoquímica, amostras retiradas entre o quarto e sexto nó e entrenó.

Dessa forma, os resultados obtidos, além de contribuírem para o conhecimento do táxon com dados inéditos, trouxeram importantes colaborações para o início de estudos posteriores, possibilitando que novas indagações para a promoção e efetivação de novos estudos.

7. REFERÊNCIAS

- AGAREZ, F. V.; RIZZINI, C. M.; PEREIRA, C. **Botânica: taxonomia, morfologia e reprodução dos angiospermae: chave para determinação das famílias**. 2 ed. Âmbito Cultural, 1994.
- ALBUQUERQUE, Pe. J. M. **Plantas Medicinais de uso popular**. Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, MEC, Brasília, 1989.
- ALMEIDA, N. F. L.; SILVA, S. R. S.; SOUZA, J. M.; QUEIROZ, A. P. N.; MIRANDA, G. S.; OLIVEIRA, H. B. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de Viçosa-MG. **Rev. Bras. Farm.** Vol. 90, n. 4, p. 316-320, 2009.
- Alternative Medicine Review**. Vol. 14, n. 1, p. 67-70, 2009.
- ALVES, A. C. A. **Efeito das diferentes intensidades luminosas na Morfoanatomia Foliar de duas espécies de plantas medicinais em consórcio com Ilex paraguariensis A. St.-Hil. (Aquifoliacea)**. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Paraná. 61p. Curitiba, 2006.
- ALVES, E. S.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the wood anatomy of brazilian species.1. Growth rings and vessels. **IAWA J.** Vol. 21, n.1, p. 3-30. 2000.
- ALVES, E. S.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the wood anatomy of some brazilian species. 2. Axial parenchyma, rays and fibres. **IAWA J.** Vol. 23, n. 4, p. 391-418, 2002.
- AMARAL, F. M. M; COUTINHO, D. F; RIBEIRO, M. N. S; OLIVEIRA, M. A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luis – Maranhão. **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol. 13 (supl.), p. 27-30, 2003.
- ANDERSEN, A.; LUCCHINI, F. F.; MORICONI, J.; FERNÁNDEZ, E. A. Variabilidad en la morfo-anatomía foliar de *Lippia turbinata* (Verbenaceae) en la provincia de San Luis (Argentina). **Rev. Inter. Bot. Exper.** Vol. 75, p. 137-143, 2006.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 14 de março de 2010.
- ASCENSÃO, L.; MARQUES, N.; PAIS, M. S. Glandular Trichomes on Vegetative and Reproductive Organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). **Annals of Botany.** 75, p. 619-626, 1995.
- ASCENSÃO, L.; PAIS, M. S. The leaf capitate trichomes of *Leonotis leonurus*: histochemistry, ultrastructure and secretion. **Annals of Botany.** 81, p. 263-271, 1998.
- ASCENSÃO, L.; MOTA, L.; CASTRO, M. M. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. **Annals of Botany.** 84, p. 437-447, 1999.

- AZIMI, R. A. Z.; JAMZAD, Z.; SEFIDKON, F.; BAKHSHI-KHANIKI G. H. The potential value of phytochemical and micromorphological characters in taxonomic treatment of genus *Vitex* L. (Lamiaceae). **Iran. J. Bot.** Vol.12, n.1. Tehran, 2006.
- BONZANI, N. E.; FILIPPA, E. M.; BARBOZA, E. G. Estudio anatómico comparativo de tallo en algunas espécies de Verbeaceae. **Anales del Instituto de Biología-Série Botánica.** Universidad Autónoma de Mexico. Vol. 74, n. 1, p. 31-45, 2003.
- BOZZOLA, J. J.; RUSSEL, L. D. **Electron Microscopy.** Principles and Techniques for Biologists. Boston, Jones and Barlett Publishers, 1991.
- BRAGA, J. M. F.; PIMENTEL, R. M. M.; FERREIRA, C. P.; RANDAU, K. P.; XAVIER, H. S. Morfoanatomia, histoquímica e perfil fitoquímico de *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae). **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol.19, n. 2B, p. 516-523, 2009.
- BRANDÃO, M. G. L.; ALVES, R. M. S.; MOREIRA, R. A.; OLIVEIRA, P.; VIEIRA, M. T.; MOREIRA-CAMPOS, L. M. Qualidade de amostras comerciais de chás de plantas medicinais. **Rev. Bras. Plant. Med.** Vol. 5, n. 1, p. 56-59, 2002.
- BURGER, L. M.; RICHTER, H. G. **Anatomia da Madeira.** São Paulo. Nobel. 154 p., 1991.
- CAMARGO, M. T. L. A. **Plantas Mediciniais e de Rituais Afro-Brasileiros II:** Estudo Etnofarmacobotânico. Ed. Ícone. São Paulo, 1998.
- CANTINO, P. D. The phylogenetic significance of stomata and trichomes in the Labiatae and Verbenaceae. **J. Arn. Arbor.** Lawrence. Vol. 71, p. 323-370, 1990.
- CARMICHAEL, A. R. Can *Vitex Agnus Castus* be Used for the Treatment of Mastalgia? What is the Current Evidence? **Oxf. Univer. Press.** Vol. 5, n. 3, p. 247–250, 2008.
- CHANTARANOTHAI, P.; KOOMGRATOK, S.; SIMPSON, D. A. Taxonomic notes on some Southeast Asian species of *Vitex* (Lamiaceae). **Kew Bulletin.** Vol. 59, p.319-320, 2004.
- COMBRINCK, S.; DU PLOOY, G. W.; McCRINDLE, R. I.; BOTHA, B. M. Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). **Annals of Botany.** 99, p. 1111–1119, 2007
- COSTA, J. G. M.; SOUSA, E. O.; RODRIGUES, F. F. G.; LIMA, S. G.; BRAZ-FILHO, R. Composição química e avaliação das atividades antibacteriana e de toxicidade dos óleos essenciais de *Lantana camara* L.e *Lantana* sp. **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol.19, n. 3, p. 710-714, 2009.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of the classification of flowering plants.** New York: Columbia University Press, p. 920-924, 1981.
- CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants.** 2 ed. The New York Botanical Garden. New York, 1988.
- CUNHA, M. C. Relações e dissensões entre saberes tradicionais e saber científico. **Rev. USP.** n. 75, p. 76-84, 2007.

CUTTER, E. G. **Anatomia Vegetal**. Parte II: Órgãos Experimentos e Interpretações. Editora Roca. São Paulo, 1986.

CZEKALSKI, L; MOURÃO, K. S. M.; MARQUES, L. C. Avaliação farmacognóstica das sumidades floridas de *Prunella* sp, adulterante comercial do alecrim europeu *Rosmarinus officinalis*. **Rev. Pesq. Inov. Farm.** Vol. 1, n. 1, p. 27-39, 2009.

DEAN, W. A Botânica e a Política Imperial: Introdução e Adaptação de Plantas no Brasil Colonial e Imperial. **Instituto de Estudos Avançados da Universidade de São Paulo**, 1989. Disponível em: <<http://www.iea.usp.br/artigos>> Acesso em 14 de janeiro de 2010.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: UNESP. 230 p., 1996.

DOGAN, Y.; AY, G.; KOZUHAROVA, E. A study on the anatomical characteristics of *Vitex agnus-castus* (Verbenaceae). **Phyt. Balc.** Vol.14, n.1, p. 97 -101. Sofia, 2008.

DONATO, A. M.; MORRETES, B. L. de. Estudo anatômico das folhas de *Psidium wildgrenianum* Berg. (Myrtaceae), uma potencial espécie medicinal. **Rev. Bras. Farm.** Vol. 86, n. 2, p. 65-70, 2005.

DUARTE, M. R.; LOPES, J. F. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol. 17. n. 4, p. 549-556, out./dez. 2007

DUGOUA, J. J.; SEELY, D.; PERRI, D.; KOREN, G.; MILLS, E. Safety and efficacy of chastetree (*vitex agnus-castus*) during pregnancy and lactation. **Can. J. Clin. Pharmacol.** Vol. 15, n. 1, p. 74-79, 2008.

ESAU, K. **Anatomia de Plantas com Sementes**. Editora Blucher. São Paulo, 1974.

FAHN, A. **Plant Anatomy**. Ed. H. Blume. Madri, 1974.

FAHN, A.; CUTTER, D. F. **Xerophytes**. 2 ed. Berlin: Gebrüder Borntraeger Stuttgart, 1992.

FAVORITO, S. **Tricomas secretores de Lippia stachyoides Cha. (Verbenaceae): estrutura, ontogênese e secreção**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências. Botucatu, São Paulo, 2009.

FERREIRA, J. L. P.; VELASCO, E.; ARAÚJO, R. B.; KUSTER, R. M.; AMARAL, A. C. F. Estudo morfoanotômico entre os caules de *Lippia alba* e *Melissa officinalis*. **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol. 13, supl 2, p. 01-02, 2003.

FIGUEIREDO, N.; SILVA, A. V. **Banhos de cheiro, ariachés & amacis**. FUNARTE/Instituto Nacional de Folclore. Rio de Janeiro, 1983.

FONSECA, E. N.; FIGER, A.; FURTADO, D. T.; LOPES, D.; ALVIANO, C. S.; LEITÃO, S. G. Análise química e atividade antimicrobiana do óleo essencial dos frutos de *Vitex cymosa* Bertero. **Rev. Bras. Plant. Med.** Vol. 8, n. 4, p. 87-91, 2006.

- FONT QUER, P. **Plantas medicinales** - el Dioscorides renovado Barcelona. Labor, 1978 [1962].
- FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. Van Nostrand. Nueva York, 1950.
- FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resin and wood: resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature**. Vol. 155, n.39, p. 51, 1945.
- GERLACH, D. **Botanische Mikrotechnik**. Georg Thieme Verlag. Stuttgart, 1977.
- GERSHBACH, P. V. The Essential Oil Secretory Structure of *Prostanthera avalifolia* (Lamiaceae). **Annals of Botany**. 89, p. 255-260, 2006.
- GERSHENZON, J.; MAFFEI, M.; CROTEAU, R. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of spearMint. **Plant Physiology**. Vol. 89, n. 4, p. 1351-1357. Rockville, 1989.
- GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. **Morfologia Vegetal: Organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. Instituto Plantarum de estudos da flora, 446p., 2007.
- HOEHNE, F. C. **Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais**, São paulo, 1939.
- IAWA COMMITTEE. List of microscope features for hardwood identification. **IAWA Bulletin**. New Ser. Vol.10, n. 3, p. 234-332, 1989.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Normas para procedimentos em estudos de anatomia de madeira: I. Angiospermae, II. Gimnospermae**. Brasília, 19p. (Série Técnica, 15) 1992.
- JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**: 2 ed. New York: McGraw Hill, 1940.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3ed. Artmed. 632p., 2009.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica. EDUR, 1997.
- LARCHER, L.; BOEGER, M. R T. Arquitetura foliar de *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze (Acanthaceae) em duas condições de luminosidade. **Hoehnea**. Vol. 36, n. 2, p. 321-327, 2009.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. S. **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova Odessa, 2001.
- MACEDO R. L. G.; GOMES J. E.; VENTURIN N., SALGADO B. G. Desenvolvimento inicial de *Tectona grandis* L.f. (teca) em diferentes espaçamentos no município de Paracatu-MG. **Cerne**. Vol. 11, n. 1, p. 61-69, 2005.

MACHADO, S. R.; RODRIGUES, T. M. Anatomia e ultra-estrutura do pulvino primário de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae — Faboideae). **Rev. Bras. Bot.** Vol. 27, n. 1, p.135-147, jan/mar. 2004.

MAIA, A. C. C. M.; SOARES, F. C. C.; JUNIOR, H. B. M. *Vitex agnus castus* L: Um Estudo Etnobotânico e Etnofarmacológico. **Rev. Virt. Inic. Acad. UFPA.** Vol. 1, n. 2, p. 1-15, 2001.

MARIN, M.; KOKO, V.; DULETIC-LAUSEVIC, S.; MARIN, P. D.; RANILE, D.; DAJIC-STEVANOVIC, Z. Glandular trichomes on leaves of *Rosmarinus officinalis*: morphology, stereology and histochemistry. **South African J. Bot.** 72, p. 378-382, 2006.

MARTINS, E. L. P.; BRANDÃO, M. G. L. Qualidade de amostras comerciais preparadas com *Aesculus hippocastanum* L. (castanha da Índia). **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol. 16, n. 2, p. 224-229, 2006.

MARTINS, M. B. G.; PASTORI, A. P. Anatomia foliar com ênfase nos tricomas secretores e análise cromatográfica do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae). **Rev. Bras. Pl. Med.** Vol. 6, n. 2, p. 77-82, 2004.

MAURO, C.; SILVA, C. P.; MISSIMA, J.; OHNUKI, T.; RINALDI, R. B.; FROTA, MELISSA. Estudo anatômico comparado de órgãos vegetativos de boldo miúdo, *Plectranthus ornatus* Codd. e malvariço, *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. – Lamiaceae. **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol. 18, n. 4, p. 608-613, out./dez. 2008.

McCASKILL, D.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. Morphology and monoterpene biosynthetic capabilities of secretory cell clusters isolated from glandular trichomes of pepper Mint. **Planta.** Vol. 187, n. 4, p. 445-454. Berlin, 1992.

MELO, J. G.; NASCIMENTO, V. T.; AMORIM, E. L. C.; LIMA, A. C. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo, pata de vaca e ginkgo. **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol. 14, n. 2, p. 111-120, 2004.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledonous.** Oxford: Clarendon Press. vol.2, p. 1030-1041, 1950.

MILANEZE-GUTIERRE, M. A.; MELLO, J. C.; DELAPORTE, R. H. Efeitos da intensidade luminosa sobre a morfo-anatomia foliar de *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae) e sua importância no controle da qualidade vegetal. **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol. 13, n. 1, p. 23-33, 2003.

MMA. **Primeiro relatório nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica.** Ministério do Meio Ambiente. Brasília, 1998

MUNSIF, S.; KHAN, M. A.; AHMAD, M.; ZAFAR, M.; SHAH G. M.; SHAHEEN, N. Leaf Epidermal Anatomy as an Aid to the Identification of Genera *Lantana*, *Verbena* and *Vitex* of Family Verbenaceae from Pakistan. **J. Agri. Soc. Sci.**, Vol. 3, n. 2, 2007.

NASCIMENTO, J. E.; LACERDA, E. U.; NASCIMENTO, V. T.; MELO, J. G.; ALVES B. S.; SILVA, L. G. M.; RAMOS, M. A., LIMA, C. S. A.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM,

E. L. C. Produtos à base de Plantas Medicinais comercializados em Pernambuco - Nordeste do Brasil. **Acta Farm. Bonaer.** Vol. 24, n. 1, p. 113-22, 2005.

NASRI, S.; ORYAN, S.; HAERI ROHANI, A.; AMIN, GH.; YAHYAVI, H. The Effects of *Vitex agnus castus* L. Extract on Gonadotrophines and Testosterone in Male Mice. **Iranian Int. J. Sci.** Vol. 5, p. 25-30, 2004.

NUNES, R. S.; XAVIER, H. S.; ROLIM NETO, P. J.; SANTANA D. P.; ALBUQUERQUE, U. P. Padronização Botânica de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae). **Acta Farm. Bonaer.** Vol. 19, n. 2, p. 115-8, 2000.

OHYAMA, K.; AKAIKE, T.; HIROBE, C.; YAMAKAWA, T. Cytotoxicity and Apoptotic Inducibility of *Vitex agnus-castus* Fruit Extract in Cultured Human Normal and Cancer Cells and Effect on Growth. **Biol. Pharm. Bull.** Vol. 26, n. 1, p. 10-18, 2003.

ÖZTÜRK, A.; ILMAN, A. A.; SAGLAM, H.; YALÇINKAYA, U.; AYKUT, S.; AKGÖZ, S.; ÖZKAN, Y.; YANIK, K.; KIVÇAK, B.; YALÇIN, N.; ÖZDEMİR, R. M. The effects of phytoestrogens on fracture healing:experimental research in New Zealand white rabbit. **Turk. J. Traum. Emerg. Surg.** Vol. 14, n. 1, p. 21-27, 2008.

PASSOS, J. L. **Comparação da anatomia e química de *Lantana camara* e *L. radula* e interação dessas espécies com *Corynespora cassiicola*.** Dissertação (Doutorado em Botânica). Universidade Federal de Viçosa. 93p. Viçosa, 2008..

PEGORARO, R. L. **Avaliação do crescimento e produção de óleos essenciais em plantas de *mentha* x *piperita*. Var. *Piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição.** Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

PIMENTA, M. R.; FERNANDES, L. S.; PEREIRA, U. J.; GARCIA, L. S.; LEAL, S. R.; LEITÃO, S. G.; SALIMENA, F. R. G.; VICCINI, L. F.; PEIXOTO, P. H. P. Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae). **Rev. Bras. Bot.** Vol. 30, n. 2, p. 211-220, 2007.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Imprensa Nacional. Rio de Janeiro. Vol. 1, 1926. reimp. 1978/1984.

POSER, V.; SOBRAL G. L.; TOFFOL, M, M. E. G.; HENRIQUES, A. T. E. Implicações Taxonômicas de Iridóides em Verbenaceae. **Cader. Farm.** Vol. 13, n. 2, p. 169-172, 1997.

PURVIS, M.; COLLIER, D.; WALLS, D. **Laboratory techniques in botany.** London, Butterworths, 1964.

RODRIGUES, T. M.; MACHADO, S. R. Anatomia comparada do pulvino primário de leguminosas com diferentes velocidades de movimento foliar. **Rev. Bras. Bot.** Vol. 29, n.4, p.709-720, 2006.

ROEMHELD-HAMM, M. D. B. Chasteberry. **Amer. Fam. Phys.** Vol. 72, n. 1, p. 821-824, 2005.

ROQUE, R. M.; FILHO, M. T.; DIAS, C. T. S. Variações na estrutura da anatomia do lenho de árvores de *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) de clima tropical seco e úmido na Costa Rica. **Sci. For.** n. 75, p. 65-75, 2007.

SÁ BARRETO, L. C. L. de. **Estudo farmacognóstico e determinação da atividade biológica de *Vitex gardneriana* Shauer. (Verbenaceae).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Pernambuco. 114p. Recife, 2004.

SÁ-BARRETO, L. C. L.; CUNHA-FILHO, M. S. S.; SOUZA, I. A.; FRAGA, M. C.; XAVIER, H. S. Avaliação Preliminar da Atividade Biológica e Toxicidade Aguda de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae). **Lat. Amer. J. Pharm.** Vol. 27, n. 6, p. 909-913, 2008.

SANJAD, N. Os jardins botânicos luso brasileiros. **Ciênc. Cult.** Vol. 62, n.1, p. 20-22, 2010.

SANTIAGO, E. J. A.; PINTO, J. E. B. P.; CASTRO, E. M.; LAMEIRA, O. A.; CONCEIÇÃO, H. E. O.; GAVILANES, M. L. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciênc. Agrotec.** Lavras, Vol. 25, n. 5, p. 1035-1042, 2001.

SANTOS, M. R. A.; INNECCO, R.; SOARES, A. A. Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. **Rev. Ciênc. Agro.** Vol. 35, n. 2, p. 377-38, 2004.

SCHAUER, J. C. Verbenaceae. In: **FLORA BRASILIENSIS.** Vol. 9, n.10, Coluna 164-308, 1851. Disponível em: <<http://florabrasiliensis.cria.org.br/fviewer>> Acesso em 13 de fevereiro de 2010.

SCHELLENBERG, R. Treatment for the premenstrual syndrome with agnus castus fruit extract: prospective, randomised, placebo controlled study. **B. M. J.** Vol. 322, p. 134 -137, 2001.

SERRATO-VALENTI, G.; BISIO, A; CORNARA, L.; G. CIARALLO. Structural and Histochemical Investigation of the Glandular Trichomes of *Salvia aurea* L. Leaves, and Chemical Analysis of the Essential Oil. **Annals of Botany.** 79, p.329-336, 1997.

SILVEIRA, P. F.; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Rev. Bras. Farmacogn.** Vol. 18, n. 4, p. 618-626, 2008.

SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of dicotyledons.** Oxford: Clarendon Press.1182 p., 1908.

SOUZA, T. J. T.; MANFRON, M. P.; ZANETTI, G. D.; HOELZEL, S. C. S. M.; PAGLIARIN, V. P. Análise Morfo-Histológica e Fitoquímica de *Verbena litoralis* Kunth. **Acta Farm. Bonaer.** Vol. 24, n. 2, p. 209-14, 2005.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática:** Guia ilustrado para identificação das famílias Fanerógamas do Brasil, baseado em APG II. Instituto Plantarum de Estudos da Flora. Nova Odessa, São Paulo, 2005.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: Guia ilustrado para identificação das famílias Fanerógamas do Brasil, baseado em APG II. 2 ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo, 2008.

THEOBALD, W. L.; KRAHULIK, J. L.; ROLLINS, R. C. Trichome description and classification. In: METCALF, C. R e CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol. 1: Systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject. 2 ed. Clarendon Press. Oxford, 1979.

TOBIAS, M. L.; OLIVEIRA, K. P.; MARQUES, L. C. Controle de qualidade de drogas vegetais de farmácias de manipulação de Maringá (Paraná, Brasil). **Rev. Eletr. Farm.** Vol. 4, n. 1, p. 95-103, 2007.

TOLEDO, M. G. T.; ALQUINI, Y.; NAKASHIMA, T. Caracterização anatômica das folhas de *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae). **Rev. Bras. Cienc. Farm.** Vol. 40, n. 4, out./dez. 2004

UPHOF, J. C. **Plant hairs**. Handbuch der Pflanzenanatomie. Berlin: Gebrüder Borntraeger. Band IV (5). 1962.

VALLADARES, F.; BRITES, D. Leaf phyllotaxis: Does it really affect light capture? **Plant. Ecol.** Vol.174. n.1, p.11-17, 2004.

WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; DUDAI, N.; KATZIR, I. Glandular hair and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). **Annals of Botany**. 71, p. 43-50, 1993.

ZANETTI, G. D.; MANFRON, M. P.; HOELZEL, S. C. S. Análise morfoanatômica de *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae) **IHERINGIA**, Sér. Bot. Vol. 59, n. 2, p. 173-178, jul./dez. 2004.

ZOGHBI, M. D. B.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. The essential oil of *Vitex agnus castus* L. growing in the Amazon Region. **Flav. Frag. J.** Vol. 14, n. 4, p. 211-213, 1999.