

# Metabólitos secundários e características anatômicas de folhas de orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) cultivado sob malhas coloridas

## Secondary metabolites and anatomical features of oregano leaves (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) grown under colored meshes

Vanuze C. Oliveira<sup>1,\*</sup>, Anacleto R. Santos<sup>2</sup>, Girlene S. Souza<sup>2</sup>, Gabriel R. F. Lima<sup>2</sup>, Pérciles B. Alves<sup>3</sup> e Hamilton V. Santos<sup>3</sup>

\* Parte da Dissertação de Mestrado da Primeira Autora

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras. Departamento de Ciência do Solo. Av. Doutor Sylvio Menicucci, 1001 - Kennedy, Lavras - MG, 37200-000. Financiadoras: Capes, FAPESB, CNPq, Brasil;

<sup>2</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas-BA. Rua Rui Barbosa, 710 - Campus Universitário CEP 44380-000, Cruz das Almas/BA, Brasil;

<sup>3</sup> Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão - SE. Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos - Depto de Química - Laboratório de Pesq. de Produtos Naturais Rosa Elze, CEP: 49100000, São Cristóvão, SE, Brasil.

(\*E-mail: vanuze.costa@gmail.com)

<http://dx.doi.org/10.19084/RCA15103>

Recebido/received: 2015.08.12

Recebido em versão revista/received in revised form: 2015.09.17

Aceite/accepted: 2015.10.16

### RESUMO

Plantas de orégano foram cultivadas em diferentes ambientes de luz, obtidos com o uso de malhas coloridas, com o objetivo de avaliar o teor e a composição de óleo essencial e características anatômicas nas folhas destas plantas. Para isto, foi realizado o cultivo em vasos com capacidade para 3 dm<sup>3</sup> submetidas aos seguintes tratamentos: cultivo sob pleno sol (testemunha absoluta), malha azul, malha vermelha e malha cinza. Foi adotado o DIC com seis repetições. Foram avaliadas características anatômicas de pecíolo e folhas, teor e composição do óleo essencial. Observa-se que a modificação no ambiente de luz possibilita modificações no aumento do teor de óleo essencial, assim como influencia na composição química deste metabólito secundário.

**Palavras-chave:** Anatomia vegetal, estresse vegetal, metabólitos secundários, *Origanum vulgare* L.

### ABSTRACT

Oregano's plants were grown in different light environments, obtained with the use of colorful fabrics, in order to evaluate the content and composition of essential oil and anatomical characteristics in leaves of these plants. For this, the plants were grown in pots with capacity for 3 dm<sup>3</sup> submitted to the following treatments: cultivation under full sun (absolute witness), shading with blue, red and gray colors. It was adopted the DIC with six repetitions. Anatomical features were evaluated of petiole and leaf, content and composition of essential oil. It is observed that modification in the light environment allows increasing the content of essential oil and it influences in the chemical composition of this secondary metabolite.

**Keywords:** *Origanum vulgare* L., plant anatomy, plant stress, secondary metabolites.

### INTRODUÇÃO

O orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*), pertencente à família Lamiaceae é considerado uma das plantas aromáticas mais utilizadas no mundo na indústria alimentícia e na produção de cosméticos, fazendo

parte da composição de hidratantes corporais e perfumes (Kruppa & Russomanno, 2008), o que se deve, em especial à presença do óleo essencial.

Esse produto, que é proveniente do metabolismo secundário, em algumas plantas caracteriza-se

como sendo de alto valor, já que, na maioria das vezes apresenta-se em pequeníssimas quantidades, além disso, é de difícil obtenção, devido a sua alta volatilidade.

Em se tratando de produção de óleo essencial em plantas da família Lamiaceae, algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas em que há alteração no ambiente de cultivo, com o uso de malhas coloridas para melhorar a qualidade da luz a que as plantas são expostas (Souza *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012; Chagas *et al.*, 2013), buscando, assim, aumentar a concentração de compostos químicos nas espécies medicinais e aromáticas.

É importante ressaltar que as respostas morfofisiológicas das plantas não dependem apenas da presença, atenuação ou ausência da luz, mas, da qualidade espectral da radiação (Taiz e Zeiger, 2004).

Neste sentido, plantas de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) cultivadas sob malhas de cor vermelha, preta e sob o pleno sol, obtiveram maiores teores e rendimento de óleo essencial (Costa *et al.*, 2012); quando se trata de características anatômicas, plantas de *Laelia purpurata* cultivadas sob malha azul apresentam grande diferenciação de tecidos (Silva Júnior *et al.*, 2012).

Considerando que o óleo essencial representa o resultado da interação entre a planta e o ambiente, é possível relacionar aumento da produção deste metabólito secundário às modificações ambientais (Gobbo-Neto e Lopes, 2007). E, para espécies da família Lamiaceae, há pesquisadores que relacionem o armazenamento de óleo essencial aos tricomas existentes nas folhas das plantas.

Dentre outros fatores, a qualidade de luz incidente sobre os vegetais é um fator fundamental para aumento da produção vegetal e modificações nas características anatômicas de plantas. No entanto, são poucas as informações sobre a qualidade de luz nas características anatômicas em plantas aromáticas, em especial com a cultura do orégano.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes ambientes de luz modificada com o uso de malhas coloridas na anatomia, teor e composição de óleo essencial em folhas de orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*).

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Estação Experimental do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no município de Cruz das Almas-BA, com altitude média de 225 m e a 12°40'19"S e 39°06'22"W e nos laboratórios de fitotecnia e fitoquímica da mesma instituição e no laboratório de produtos naturais na Universidade Federal de Sergipe.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, sendo analisados três ambientes de luz modificada com malhas coloridas nas cores: azul, cinza e vermelha e plantas cultivadas a pleno sol, com seis repetições.

Foram utilizadas plantas de orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*), obtidas em uma propriedade rural no município de Cruz das Almas-BA a partir de uma matriz com 60 dias. A irrigação foi realizada manualmente até o solo atingir capacidade de campo. O plantio foi realizado em vasos com 3 dm<sup>3</sup> utilizando-se Latossolo Amarelo distrófico coeso, com as seguintes características químicas na camada de 0-20 cm: pH (em H<sub>2</sub>O) = 6,65; Al trocável (Cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) = 0,00; Ca+Mg (Cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) = 12,50; P- Mehlich 1 (mg dm<sup>-3</sup>) = 18,00; K (mg dm<sup>-3</sup>) = 55,00; Matéria orgânica = 21,00%; V (%) = 94,91; Soma de bases = 76,50 (Cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>); CTC = 13,56 (Cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>).

Em cada tratamento foram coletadas aleatoriamente dez folhas inteiras do terceiro nó no sentido descendente. As amostras foram armazenadas em álcool 70° para a realização dos cortes anatômicos paradérmicos e transversais.

Clarearam-se as folhas em solução de hipoclorito de sódio a 50%, para os cortes paradérmicos que foram realizados a mão livre, em seguida, corados com safranina (0,5%). Os cortes transversais também foram feitos manualmente com lâmina de aço, em seguida, coradas com mistura de Azul de Toluidina -95%. As imagens foram fotomicrografadas em microscópio de luz Ken-a-Vision TT 18 acoplado a uma câmera fotográfica Canon Power Shot Modelo A 620.

Para a extração do óleo, foi utilizado o método de hidrodestilação em aparelho de Clevenger, onde foram colocados 25 g de folhas em balões de 1 L e

adicionado água destilada até a imersão do mesmo, em seguida iniciou-se o processo de destilação através do arraste do óleo essencial pelo vapor d'água. Considerou-se o início do processo quando as primeiras gotas desceram pelo condensador. A extração permaneceu por 2 horas. Ao final do processo, o óleo essencial foi colhido, armazenado em frascos de vidro.

Para a determinação química dos compostos do óleo essencial foram realizadas análises utilizando um CG-EM-DIC (GC-2010 Plus; GCMSQP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Japão) equipado com um amostrador de injeção automática AOC-20i (Shimadzu). As separações foram realizadas pelo processo de eluição diferencial utilizando uma coluna capilar de sílica fundida Rtx®-5MS Restek (5%-difenil-95%-dimetilpolisiloxano) fase reversa de 30 m x 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura de filme, em um fluxo constante de hélio (99,999 %) com taxa de 1,2 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura de injeção foi de 280°C, 1,0 µL (10 mg mL<sup>-1</sup>) de amostra foi injetado, com uma razão de *split* de 1:30. A programação de temperatura do forno iniciou-se a partir de 50°C (isoterma durante 1,5 min), com um aumento de 4°C min<sup>-1</sup>, até 200°C, em seguida, a 10°C min<sup>-1</sup> até 300°C, permanecendo por 5 minutos.

O processo de ionização para o CC-DIC foi realizado pela chama proveniente do gás hidrogênio e ar sintético, as espécies elétricas coletadas, e a corrente elétrica gerada amplificada e processada. Para o CG-EM as moléculas foram ionizadas pelo impacto de elétrons com energia de 70 eV, os fragmentos analisados por um sistema quadropolo programado para filtrar fragmentos/íons com *m/z* na ordem de 40 a 50 0Da e detectados por um multiplicador de elétrons. O processamento de dados é realizado utilizando o Software CGMS Postrum Analysis e CG Postrum Analysis (Labsolutions- Shimadzu).

Na identificação dos compostos químicos foi realizado o cálculo de índice de retenção (IR), baseado nos tempos de retenção de uma série homóloga de *n*-alcanos *n*C8-*n*C18, foram analisados nas mesmas condições cromatográficas das amostras de óleo essencial.

As comparações dos índices de retenção experimentais das análises de óleo para identificação dos compostos, basearam-se nos IR da literatura do Adams (2007) bem como nas bibliotecas

do equipamento (WILEY8, NIST105, NIST105s, NIST21, NIST107) utilizadas como base de pesquisa para identificações dos constituintes utilizando um índice de similaridade de 80 % e a NIST MS Search2.0. Fonte: (<http://chemdata.nist.gov/mass-spc/ms-search/downloads/>).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

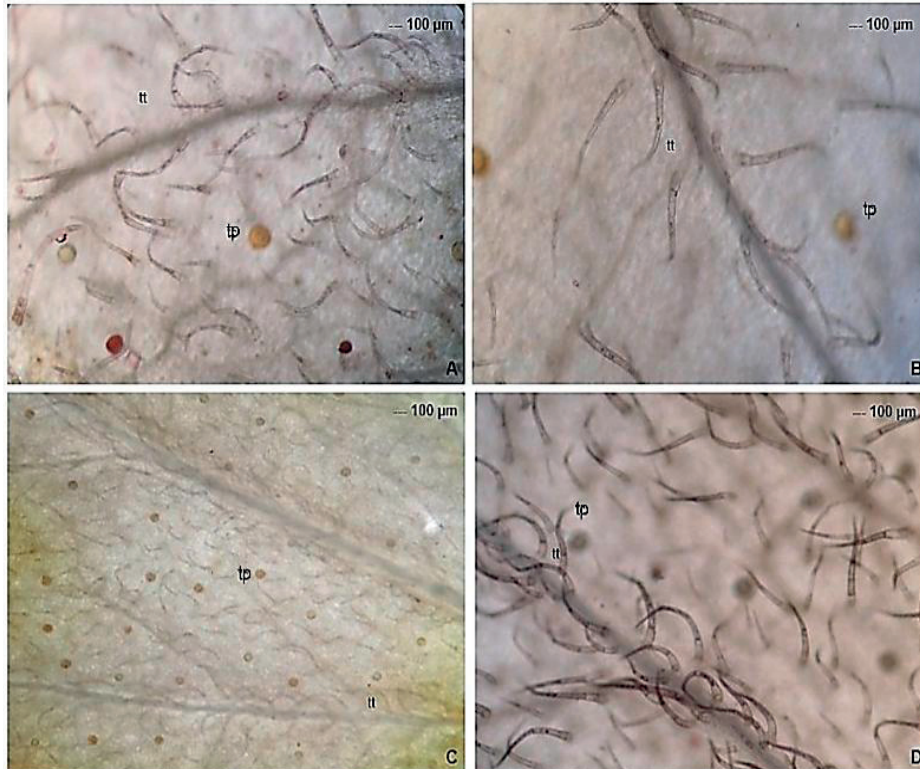
Foram detectados dois tipos de tricomas na epiderme da lâmina foliar do orégano (subsp. *vulgare*): tricomas tectores e tricomas secretores ou glandulares. Estes últimos podem ser de dois gêneros, capitados tipo I e peltados (Figura 1). Nas plantas cultivadas a pleno sol, percebe-se maior número de tricomas (Figura 1C). De acordo com Fahn (1990), esta é uma característica adaptativa da planta a estresses ambientais, como alta radiação e baixa umidade, sendo assim consideradas características de adaptação xerofítica e podem desempenhar diferentes funções como a retenção de água, regulação térmica e imobilização de insetos (Canini, 2012).

As espécies da família Lamiaceae têm em comum esta característica de vários tipos de tricomas na epiderme foliar, o que é de grande valor para a identificação taxonômica, assim como a estrutura vascular do pecíolo (Metcalf e Chalk, 1979). Apresentam dois tipos de tricomas secretores, tricomas peltados e capitados. Segundo Ascensão (1999) todos possuem uma cabeça de formato arredondado apoiada numa haste (ou pé) de dimensão e número de células variável.

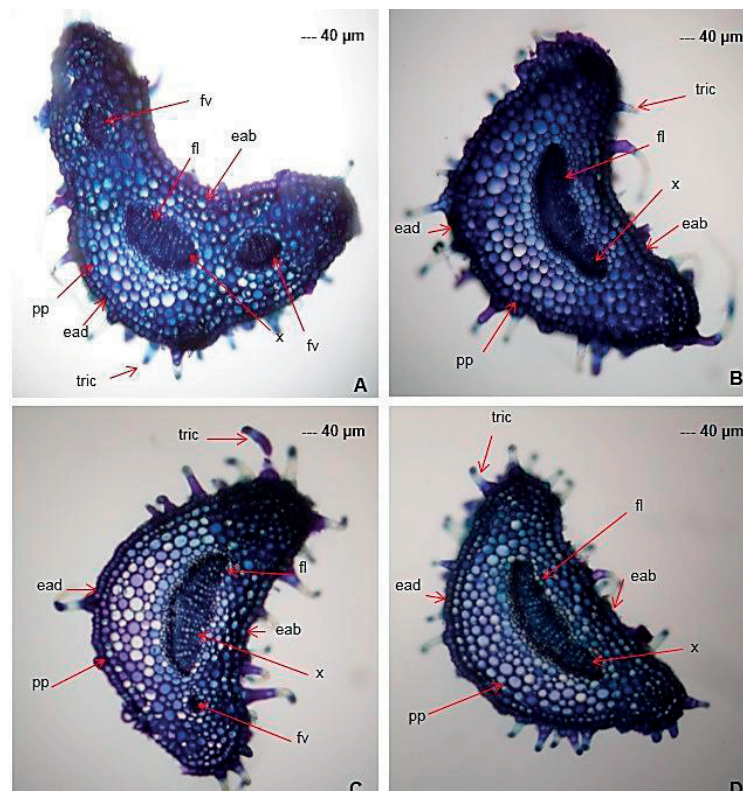
Em relação aos cortes transversais nos pecíolos (Figura 2), é perceptível que as plantas que permaneceram sob a malha azul apresentaram face adaxial côncava e a face adaxial mais convexa (Figura 2A) e foram detectados tricomas tanto na face adaxial como na face abaxial.

As plantas que permaneceram sob a malha de cor cinza apresentaram característica côncava na face adaxial e convexa na face abaxial nos pecíolos (Figura 2B) além de apresentar tricomas em todos os pecíolos avaliados. Uma diferença marcante nas plantas cultivadas neste ambiente diz respeito à presença de apenas um feixe vascular, localizado na área central do pecíolo.

Em plantas cultivadas sob pleno sol, percebeu-se que, para a face abaxial do pecíolo, houve formato



**Figura 1** - Epiderme de folhas de orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) cultivado em distintos ambientes de luz (A: malha azul; B: malha cinza; C: pleno sol; D: malha vermelha). Tt: Tricoma tector; Tp: Tricoma peltado. Cruz das Almas-BA, 2014.



**Figura 2** - Corte transversal do pecíolo de orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) cultivado em distintos ambientes de luz (A: malha azul; B: malha cinza; C: pleno sol; D: vermelha). Cruz das Almas-BA, 2014.

levemente côncavo e face adaxial convexa (Figura 2C). Também foram identificados tricomas em todos os cortes de pecíolos.

Os tricomas tectores são consideradas estruturas de grande valor para algumas espécies vegetais, como o algodão (Silva *et al.*, 2005); já os tricomas glandulares apresentam valor econômico em plantas que produzem óleos essenciais, como o orégano; há pesquisadores que afirmam que o óleo essencial também está armazenado nesse tipo de tricoma, por isso definido como glandulares, pois são em formato de glândulas e possuem essa possibilidade de armazenamento. Os tricomas secretores peltados são os que maior quantidade de óleo essencial acumulam.

Os pecíolos avaliados nas plantas cultivadas sob malha vermelha apresentaram o formato da epiderme adaxial convexo, apresentando dois feixes vasculares, sendo um no centro e outro em uma das extremidades do pecíolo (Figura 2D). Essas modificações na anatomia das plantas de orégano podem ser explicadas pelo fato de as características das espécies vegetais poderem variar conforme o ambiente em que são dispostas, e a intensidade luminosa afeta consideravelmente a estrutura da anatomia foliar das espécies estudadas, assim como constataram Santos *et al.* (2014).

Diferentes características na anatomia de uma espécie vegetal podem ser encontradas em folhas da mesma planta quando são expostas a distintos períodos de luminosidade (Taiz e Zeiger, 2004).

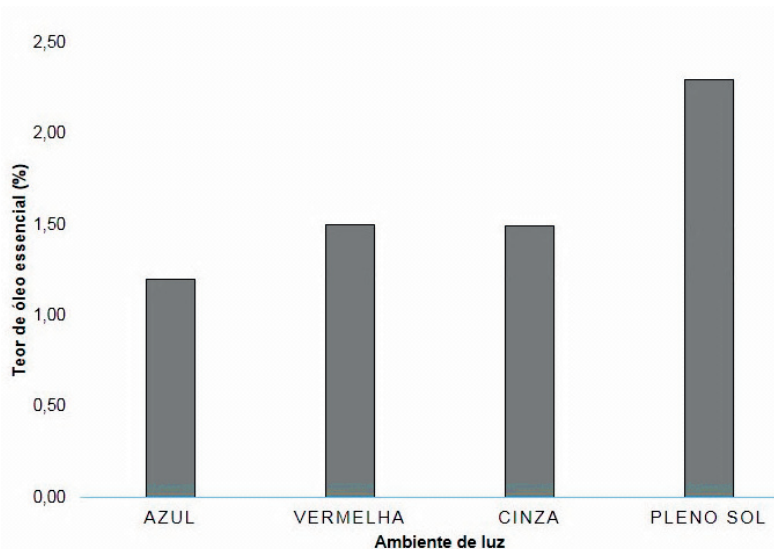
Pesquisadores afirmam que o aumento no número de tricomas pode influenciar o rendimento de óleo essencial de plantas (Pegoraro, 2007; Santos *et al.*, 2013). O que pode ser constatado neste experimento, em que as plantas em que foram identificados mais tricomas foram aquelas que apresentaram maior teor de óleo essencial (Figura 3). O que pode ter sido ocasionado pelo possível estresse ocasionado pela intensidade luminosa, o que se constatou nas plantas cultivadas sob pleno sol.

Reforçando este ponto de maior produção de óleo essencial em condição de estresse, Meira *et al.* (2013) constataram que plantas de melissa que foram irrigadas com 50 % da quantidade de água evapotranspirada produziram maior teor de óleo essencial.

Considerando que distintas espécies respondem de diferentes formas aos ambientes de cultivo, Souza *et al.* (2011) detectaram que plantas de *Mikania laevigata* crescidas sob malha vermelha apresentaram maior teor de óleo essencial e, plantas de *Mikania glomerata* apresentaram maiores valores de óleo essencial quando cultivadas sob malha azul.

Também trabalhando em ambientes de luz modificada, Chagas *et al.* (2013) constataram que a produção do óleo essencial em plantas de hortelã-japonesa são mais influenciadas pela intensidade do que pela qualidade da luz.

Shafiee-Hajjabad *et al.* (2014) comprovaram que, diferentemente do que muitos pesquisadores afirmam, a maior quantidade de óleo essencial em



**Figura 3** - Teores de óleo essencial em folhas de orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) cultivado sob diferentes ambientes de luz (Sol: pleno sol; Cinza: malha cinza; Vermelha: malha vermelha e Azul: malha azul). Cruz das Almas-BA, 2014.

**Quadro 1** - Composição química do óleo essencial de folhas de orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) cultivado em diferentes ambientes de luz. (%GC-MS: cromatografia em fase gasosa; %GC-FID: cromatografia em fase gasosa associada à detecção por ionização de chamas). Cruz das Almas-BA, 2014

Composto	Pleno Sol		Malha Vermelha		Malha Cinza		Malha Azul	
	%GC-MS	%GC-FID	%GC-MS	%GC-FID	%GC-MS	%GC-FID	%GC-MS	%GC-FID
$\alpha$ -tujeno	0,68	0,78	0,72	0,73	0,67	0,97	0,56	0,55
$\alpha$ -pineno	0,61	0,77	0,68	0,84	0,74	0,83	0,69	0,87
canfeno	0,51	0,51	0,48	0,54	0,40	0,49	0,52	0,64
sabineno	3,26	3,11	3,09	3,30	3,24	3,30	2,64	2,73
$\beta$ -pineno	n	n	n	n	n	n	0,28	0,32
mirreno	0,72	1,28	0,62	1,18	0,95	1,20	0,63	1,12
$\alpha$ -terpineno	4,73	4,66	2,68	2,34	3,04	3,07	3,11	3,05
p-cimeno	14,52	13,15	11,56	9,80	12,33	11,23	13,43	12,26
5-isopropenil-1-metil-1-ciclohexeno	2,48	2,33	1,99	1,00	2,27	2,13	1,98	1,79
(Z)- $\beta$ -ocimeno	1,82	2,53	1,17	2,47	1,63	2,50	1,30	1,61
$\gamma$ -terpineno	16,76	17,19	8,13	8,65	10,19	10,89	8,48	8,90
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	n	n	3,42	4,10	3,09	4,21	2,87	4,19
3-metil-6-(1-metiletilideno)-ciclohexeno	n	n	0,26	0,31	n	n	0,54	0,74
hidrato de <i>trans</i> -sabineno	n	n	33,36	30,68	29,11	26,41	26,00	24,94
acetato de 1-octen-3-ol	4,03	4,53	3,94	4,91	4,16	5,34	3,55	5,47
1-metil-4-(metil- <i>E</i> )-2-ciclohexenol	n	n	0,36	0,48	n	n	0,54	0,93
borneol	2,06	1,95	2,30	2,45	1,88	1,85	2,36	2,65
terpinen-4-ol	27,92	24,57	9,58	8,88	9,27	9,01	11,86	10,71
$\square\square$ -terpineol	n	n	n	n	n	n	0,87	0,83
5-isopropil-2-metil anisol	n	n	n	n	n	n	0,82	1,15
acetato linalila	3,15	4,12	3,05	3,90	3,63	3,92	2,49	2,92
acetato bornila	n	n	0,26	0,32	n	n	0,33	0,24
timol	7,53	7,37	6,36	5,80	7,33	5,52	6,94	3,89
( <i>E</i> )-cariofileno	3,97	4,23	2,29	2,40	2,69	2,86	2,49	2,47
$\gamma$ -amorfeno	1,31	1,55	0,79	0,92	0,85	1,19	0,75	0,68
biciclogermacrenol	2,43	2,52	1,28	1,57	1,84	1,94	1,49	1,36
espatulenol	0,63	1,13	0,61	1,05	n	n	0,99	1,15
óxido de cariofileno	0,88	1,62	1,02	1,37	0,69	0,97	1,49	1,70

\*n - composto não detectado.

plantas de orégano não se deve apenas à maior densidade de tricomas, mas está relacionado também às condições ambientais que as plantas são submetidas.

Assim como o teor do óleo essencial, é de suma importância destacar a composição deste metabólito secundário, já que este é utilizado por indústrias para a produção de cosméticos; e, assim como o teor, a composição do óleo essencial pode variar conforme as condições ambientais as quais as plantas estarão submetidas.

Neste sentido, ao se avaliar a composição química dos óleos essenciais de folhas de orégano, foram detectados vários compostos químicos (Quadro 1), porém, os denominados: hidrato de *trans*-sabineno, *p*-cimeno,  $\gamma$ -terpineno, terpinen-4-ol e timol mostraram-se em maior concentração nos óleos essenciais estudados.

Quando as plantas de orégano foram cultivadas em ambientes de luz modificada: malha azul; sob malha vermelha; sob malha cinza e pleno sol, o composto químico *p*-Cimeno foi detectado em quase todos os óleos estudados, exceto nos óleos extraídos das plantas cultivadas sob malha cinza.

O *p*-Cimeno, detectado em grande concentração no óleo do orégano é considerado um composto antibacteriano quando combinado com o carvacrol, por ocorrer o sinergismo entre estes compostos (Silva *et al.*, 2010). No entanto, em nenhuma das condições de cultivo foi detectado o carvacrol, que é considerado, junto com o timol os compostos predominantes no óleo essencial do orégano.

O óleo avaliado das plantas cultivadas sob todos os ambientes de luz apresentou o composto químico timol, que é considerado repelente e larvicida (Novelino *et al.*, 2007). Esses resultados podem ser explicados devido às modificações ambientais, já que as condições de cultivo podem afetar a qualidade do óleo essencial desta planta (Corrêa *et al.*, 2012).

Os óleos essenciais das plantas cultivadas sob pleno sol apresentaram maior concentração de *trans*-sabineno, diferente dos resultados encontrados por Brant *et al.* (2009), que o composto de maior interesse comercial na melissa (*Melissa officinalis* L.) foi detectado em maior concentração nas plantas cultivadas sob malha vermelha. O que reforça a ideia que as respostas das plantas variam de

acordo com as espécies e as condições em que estão sendo trabalhadas.

Sendo assim, pode-se considerar que, o uso de malhas coloridas, em termos de produção de óleo essencial não exerce grande influência, já que este metabólito é muito mais influenciado pelas condições adversas do que em ambientes considerados ideais para a produção vegetal. Destacando-se os compostos químicos: hidrato de *trans*-sabineno, *p*-cimeno,  $\gamma$ -terpineno, terpinen-4-ol e timol como sendo de maior expressividade nos óleos essenciais.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, Capes, FAPESB, UFS e UFRB pela concessão de bolsas de estudo e apoio financeiro e nas análises químicas e laboratoriais.

## REFERÊNCIAS

- Adams, R.P. (2007) - *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Illinois USA, Allured Publishing Corporation, 804 p.
- Ascensão, L.; Mota, L. e Castro, M.M. (1999) - Glandular Trichomes on the Leaves and Flowers of *Plectranthus ornatus*: Morphology, Distribution and Histochemistry. *Annals of Botany*, vol. 84, n. 4, p. 437-447.  
<http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1999.0937>
- Brant, R.S.; Pinto, J.E.B.P.; Rosal, L.F.; Albuquerque, C.J.B.; Ferri, P.H. e Corrêa, R.M. (2009) - Crescimento, teor e composição do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras. *Ciência Rural*, vol. 39, n. 5, p. 1401-1407.
- Canini, G.B. (2012) - *Caracterização anatômica e composição química do óleo essencial de manjeriço (Ocimum spp.)*. Dissertação de Mestrado em Agronomia. Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília. 130 p.
- Chagas, J.H.; Pinto, J.E.B.P.; Bertolucci, S.K.V.; Costa, A.G.; Jesus, H.C.R.; Alves, P.B. (2013) - Produção, teor e composição química do óleo essencial de hortelã-japonesa cultivada sob malhas fotoconversoras. *Horticultura Brasileira*, vol. 31, n. 2, p. 297-303.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362013000200020>
- Corrêa, R.M.; Pinto, J.E.B.; Reis, E.S. e Moreira, C.M. (2012) - Crescimento de plantas, teor e qualidade

- de óleo essencial de folhas de orégano sob malhas coloridas. *Global Science and Technology*, vol. 5, n. 1, p. 11–22.
- Costa, A.G.; Chagas, J.H.; Pinto, J.E.B.P. e Bertolucci, S.K.V. (2012) - Crescimento vegetativo e produção de óleo essencial de hortelã-pimenta cultivada sob malhas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 47, n. 4, p. 534–540.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000400009>
- Fahn, A. (1990) - *Plant Anatomy*. England, Pergamon Press.
- Gobbo-Neto, L. e Lopes, N.P. (2007) - Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, vol. 30, n. 2, p. 374–381.
- Kruppa, P.C. e Russomanno, O.M.R. (2008) - Ocorrência de fungos em sementes de plantas medicinais, aromáticas e condimentares da família Lamiaceae. *Tropical Plant Pathology*, vol. 33, n. 1, p. 45–51.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762008000100013>
- Meira, M.R.; Melo, M.T.P.; Martins, E.R.; Pinto, M.J.S. e Santana, C.S. (2013) - Crescimento vegetativo, produção de fitomassa e de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. sob diferentes lâminas de irrigação. *Ciência Rural*, vol. 43, n. 5, p. 779–785.
- Metcalfe, C.R.; Chalk, L. (1979) - *Anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford, v. I, 2ª ed., 276 p.
- Novelino, A.M.S.; Daemon, E. e Soares, G.L.G. (2007) - Avaliação da atividade repelente do timol, mentol, salicilato de metila e ácido salicílico sobre larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 59, n. 3, p. 700–704.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352007000300023>
- Pegoraro, R.L. (2007) - *Avaliação do crescimento e produção de óleos essenciais em plantas de mentha x piperita L. var. piperita (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição*. Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 59 p. .
- Santos, G.A.; Brenzan, M.A. e Serra, L.Z. (2013) - Influência do cultivo na produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha spicata*. *SaBios:Rev. Saúde e Biologia*, vol. 8, n. 3, p. 19–25.
- Santos, M.S.; Feijó, N.S.A.; Secco, T.M.; Mielke, M.S.; Gomes, F.P.; Costa, L.C.B. e Silva, D.C. (2014) - Efeitos do sombreamento na anatomia foliar de *Gallesia integrifolia* (Spreng) Harms e *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, vol. 16, n. 1, p. 89–96.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722014000100013>
- Shafiee-Hajiabad, M.; Hardt, M. e Honermeier, B. (2014) - Comparative investigation about the trichome morphology of Common oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*) and Greek oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, vol. 1, n. 2, p. 50–58.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2014.04.001>
- Silva, J.P.L.; Duarte-Almeida, J.M.; Perez, D.V. e Franco, B.D.G.M. (2010) - Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella enteritidis*. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, vol. 30, p. 136-141.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000500021>
- Silva, L.M.; Alquini, Y. e Cavallet, V.J. (2005) - Interações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. *Acta Botanica Brasilica*, vol. 19, n. 1, p. 183–194.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062005000100018>
- Silva Júnior, J.M.; Castro, E.M.; Rodrigues, M.; Pasqual, M.; Bertolucci, S.K.V. (2012) - Variações anatômicas de *Laelia purpurata* var. *cárnea* cultivada *in vitro* sob diferentes intensidades e qualidade espectral de luz. *Ciência Rural*, vol. 42, n. 3, p. 480-486.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000300015>
- Souza, G.S.; Castro, E.M.; Soares, A.M.; Pinto, J.E.B.P.; Resende, M.G. e Bertolucci, S.K.V. (2011) - Crescimento, teor de óleo essencial e conteúdo de cumarina de plantas jovens de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) cultivadas sob malhas coloridas. *Revista Biotemas*, vol. 24, p. 1-11.  
<http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2011v24n3p1>
- Taiz, L. e Zeiger, E. (2004) - *Fisiologia vegetal*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed. 820 p.