Aspectos morfo-anatômicos, histoquímicos e micológicos de folhas de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng

CASAS, L.L.[1]; PAES, L.S.[2]; AJURICABA, A.A.L.[2]; SANTOS, P.[2]; CARVALHO, M.M.S[2]; SOUZA, B.B.P.[3]; TABOSA, L.C.S[4], DE LUCENA, J.M.V.M.[2*]

*[1]Faculdade Estácio do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. [2]Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. [3]Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília-DF, Brasil.[4]Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil. *E-mail: jlucena@ifam.edu.br*

RESUMO: O *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng é uma espécie utilizada na medicina popular com aplicações como anti-inflamatória, analgésica, antifúngica, antibacteriana, antisséptica e antitumoral, dentre outras. Os objetivos deste trabalho foram caracterizar a folha quanto aos seus aspectos morfo-anatômicos e histoquímicos e isolar os seus principais fungos endofíticos com a finalidade de contribuir para estudos de caráter químico, agronômico e estrutural. Para a análise morfo-anatômica foram utilizadas folhas de plantas adultas nas quais foram feitos cortes à mão livre que, após coloração específica, foram visualizados em microscópio óptico. Para os testes histoquímicos foram feitos cortes transversais e as secções foliares submetidas a diferentes reagentes. Outras amostras foliares foram fragmentadas após processo de assepsia, sendo os fragmentos semeados em BDA (Batata Dextrose Agar) e incubados à temperatura ambiente para isolamento dos principais fungos endofíticos. O estudo anatômico da folha evidenciou uma epiderme composta por tricomas tectores e glandulares e um mesófilo com parênquima paliçádico com uma ou duas camadas. Os testes histoquímicos indicaram a presença de compostos fenólicos, lipídeos, proteínas, mucilagem, terpenoides e alcaloides. Foram isoladas 90 colônias fúngicas que, após identificação morfológica, foram agrupadas nos gêneros *Aspergillus, Fusarium, Trichoderma* e *Mycelia sterilia.* Espera-se que esses dados venham a fornecer subsídios para estudos futuros que investiguem o potencial das substâncias encontradas nas folhas de *P. amboinicus.*

Palavras-chave: malvarisco, anatomia, endofítico, Lamiaceae

ABSTRACT: Morpho-anatomical, histochemical and mycological aspects of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. leaves. *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng is a plant species used in the folk medicine as anti-inflammatory, analgesic, antifungal, antibacterial, antiseptic, antitumor, etc. The aims of this study were to characterize the leaf regarding to its morphological, anatomical and histochemical aspects, as well as to isolate the main endophytic fungi, thus contributing for the chemical, structural and agronomic knowledge of this plant. Leaves of mature plants were used for the morphological and anatomical analysis, from which freehand cuts were made. For the histochemical tests, cross-sections were made and subjected to different reagents and observed under light microscopy. Leaves samples of the same specimen were superficially decontaminated, fragmented and aseptically seeded onto sterile PDA agar and incubated at room temperature for isolation of the main endophytic fungi. The anatomical study showed a leaf epidermis consisting of tector and glandular trichomes and a mesophyll with palisade in one or two layers. The histochemical tests indicated the presence of phenolic compounds, lipids, proteins, mucilage, terpenoids and alkaloids. Ninety fungal strains were isolated which, after morphological identification, were assigned to the genera *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* and *Mycelia sterilia*. These data are expected to provide a basis for future studies of the potential of substances found in the leaves of *P. amboinicus*.

Keywords: malvarisco, anatomy, endophytic, Lamiaceae

Recebido para publicação em 13/06/2016
Aceito para publicação em 20/03/2017

10.1590/1983-084X/0091

INTRODUÇÃO

O gênero *Plectranthus* é considerado dentro da família Lamiaceae como um dos mais ricos em substâncias aromáticas, apresentando muitas espécies com propriedades medicinais (Abdel-Mogib et al., 2002). Tais propriedades são atribuídas à presença dos óleos essenciais, que podem conter 100 ou mais compostos orgânicos, pertencentes à diversas classes, sendo, porém, os terpenos e os fenilpropenos os mais comumente encontrados (Hay & Svodoba, 1993).

Algumas espécies de *Plectranthus* se destacam devido às suas propriedades medicinais e morfológicas semelhantes, como *P. grandis*, *P. barbatus, P. neochilus* e *P. amboinicus* (Lorenzi & Matos, 2002; Lukhoba et al., 2006; Rice et al., 2011).

O *P. amboinicus* (Lour) Spreng é uma espécie pertencente à família Lamiaceae nativa da Ásia Oriental e encontrada em países da África e América do Sul (Lukhoba et al., 2006). É conhecida popularmente como hortelã-gorda, hortelã-pimenta e malvarisco (Mauro et al., 2008). Caracteriza-se como uma planta perene, aromática, suculenta e de crescimento ereto variando de 5 cm a 1 m de comprimento (Castillo & González, 1999; Oliveira et al., 2007).

No Brasil, é geralmente utilizada na medicina popular para tratar doenças de pele como furúnculos e micoses superficiais. Esta planta também é utilizada no tratamento de doenças respiratórias, inflamações, cefaleia, constipação, rouquidão, febre e doenças digestivas (Lorenzi & Matos, 2002; Sellar, 2002; Tôrres et AL,. 2005; Oliveira et al., 2007).

Sabe-se que os vegetais podem manter relações harmônicas com determinados organismos, dentre os quais se destacam os fungos endofíticos. Estes são organismos que habitam o interior dos tecidos vegetais sem causar danos ao seu hospedeiro (Petrini, 1991). A associação entre a planta e a comunidade endofítica resulta na produção de fitormônios, proteção contra herbivoria e estímulo ao metabolismo secundário por meio de alterações morfológicas nos tecidos do hospedeiro e/ou provocando alterações fisiológicas (Azevedo, 1998). O produto do metabolismo secundário resultante das relações estabelecidas entre endofíticos e vegetais resulta em fonte de matéria-prima com aplicações biotecnológicas altamente significativas na indústria farmacêutica, na agronomia e outras áreas (Takahashi & Lucas, 2008).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi fornecer parâmetros anatômicos e histoquímicos das folhas de *P. amboinicus*, bem como contribuir com o conhecimento acerca dos principais fungos colonizadores desta espécie. Ressalta-se que estudos dessa natureza não foram ainda registrados para a espécie em questão.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

A coleta de *P. amboinicus* (Figura 1) foi realizada no Instituto Federal do Amazonas (IFAM), Campus Manaus Zona Leste – Amazonas (03º04'42.5''S 59º55'48.3''W), no período de julho de 2016. Uma exsicata foi depositada no respectivo instituto com número de registro 12975 onde foi confirmada a espécie em estudo pela botânica Lucilene Paes. Foram coletadas folhas de 8 plantas adultas com limbo aparentemente saudável e sem danos que foram imediatamente encaminhadas para o processamento.

FIGURA 1. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng

Determinação dos parâmetros morfo-anatômicos e histoquímicos

Observação da epiderme foliar

Foram retiradas secções do ápice, bordo mediano e base da lâmina foliar e, submetidas ao hipoclorito de sódio em diferentes concentrações (70-100%) durante quatro dias. Em seguida, foram lavadas em álcool etílico 50% glicerinado, coradas com solução aquosa azul de Astra e Safranina 1% e montadas em glicerina (Kraus & Arduin, 1997).

Análise anatômica

Para a realização dos cortes foram utilizadas folhas de plantas adultas de *P. amboinicus*. O material foi fixado em etanol 70% onde permaneceu até o momento da obtenção dos cortes. Para a confecção das lâminas foram feitas secções transversais à mão livre, sendo que em seguida esses cortes foram clarificados em hipoclorito de sódio comercial, lavados em água destilada e corados em solução de Safrablau 1% e azul de Astra e Safranina sendo, em seguida, montados em glicerina aquosa a 50% (Kraus & Arduin, 1997).

Testes histoquímicos

Os testes histoquímicos foram realizados em cortes transversais com material fresco da lâmina foliar, sendo utilizados os seguintes reveladores: Xilidine Ponceau (XP) para proteínas totais (Junqueira & Junqueira, 1983), Cloreto de Ferro III ($FeCl_3$) para compostos fenólicos (Johansen, 1940), Vanilina Clorídrica para taninos (Mace & Howell, 1974), Lugol para detectar amido (Jensen, 1962), Vermelho de Rutênio para pectinas (Johansen, 1940), Ácido Tânico para mucilagem (Pizzolato & Lillie, 1973), Reagente de Wagner para detectar alcaloides (Furr & Mahlberg, 1981), 2-4-dinitrofenilhidrazina para evidenciar a presença de terpenoides (Ganter & Jollès, 1969), Vermelho Sudan IV para lipídeos (Pearse, 1980) e Floroglucinol para lignina (Johansen, 1940).

Análise micológica

Desinfestação superficial das amostras

Para o isolamento dos fungos endofíticos, as folhas inicialmente passaram por assepsia da superfície externa visando retirar os micro-organismos epifíticos, conforme a metodologia estabelecida por Pimentel (2001). Foram coletados 50 µL da última água utilizada na assepsia das amostras para verificar a eficiência quanto ao processo de desinfestação. A água coletada foi incubada em 2 placas de Petri contendo meio de cultivo BDA (Batata Dextrose Agar) (Magalhães et al., 2008). Caso houvesse crescimento de colônias dessa amostra, todo o material inoculado dos cortes foliares era descartado e repetido com novas amostras coletadas do mesmo indivíduo.

Inoculação e isolamento

Após a lavagem, as folhas foram seccionadas em fragmentos de 1 cm^2, sendo inoculados 6 deles em placas de Petri contendo meio de cultivo BDA com acréscimo de estreptomicina (250 mg L^{-1}). A incubação ocorreu em temperatura ambiente (30 ± 2 ºC) durante 7 dias. Após esse período, os fungos foram isolados pela transferência dos micélios ou conídios para tubos de ensaio com meio BDA inclinado, segundo a metodologia de Pimentel (2001) modificada.

Identificação dos fungos isolados

Para a identificação dos fungos foi utilizada a técnica de microcultivo, que consiste em semear pequenas porções de colônias fúngicas num pequeno bloco de meio BDA dentro das placas de Petri contendo duas lâminas em forma de V, lamínula e algodão estéril. Em seguida, as placas foram incubadas à temperatura ambiente até a observação do crescimento da cultura. Após o crescimento, as lâminas foram coradas com o corante Azul de Lactofenol para visualização das estruturas fúngicas. A identificação dos fungos foi feita a partir da chave proposta por Barnett & Hunter (1972).

RESULTADOS

Características morfológicas

O *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng com sinonímia científica *Coleus amboinicus* Lour e *Coleus aromaticus* (Roxb.) Benth é popularmente conhecido como hortelã-gorda, hortelã-pimenta e malvarisco (Mauro et al., 2008; Kinupp & Lorenzi, 2014). Suas características morfológicas são semelhantes àquelas encontradas na literatura para a espécie *P. grandis,* a qual *é descrita* como sendo um arbusto com até 3 m de altura com folhas maiores que 4,7 cm, caule subquadrangular espesso com pelos. Apresentam folhas simples, opostas ou verticiladas, suculentas, aromáticas e revestidas de pelos.

Descrição anatômica do limbo foliar

O limbo foliar de *P. amboinicus* apresenta um mesofilo homogêneo, dorsiventral, com uma camada de parênquima paliçádico e 2-3 camadas de parênquima lacunoso (Figura 2A e 2B). A região da nervura central apresenta um feixe vascular colateral fechado com elementos de vaso de metaxilema bem visíveis (Figura 2B e 2C).

A epiderme é revestida de tricomas tectores e glandulares. Os tricomas tectores são unisseriados e pluricelulares. Os tricomas glandulares apresentam cabeça secretora circular sendo pedicelados e não pedicelados (Figura 2E e 3A). Oliveira (2011) sugere a existência de padrões nas espécies de Lamiaceae quanto à classificação do tricoma tector, podendo este ser simples ou ramificado, e os glandulares, classificados como peltado e/ou capitado, geralmente variando quanto ao número de células que compõem a cabeça secretora.

A folha é hipoestomática apresentando estômatos do tipo anomocíticos (Figura 2F). Mauro et al. (2008) descreve os estômatos anomocíticos com células guardas reniformes, imersas em células epidérmicas fundamentais. Os estômatos em Lamiaceae podem ocorrer em uma ou em ambas as faces da lâmina foliar (Metcalfe & Chalk, 1957).

Os testes histoquímicos demonstrados na Figura 3 indicaram a presença de várias substâncias distribuídas ao longo da lâmina foliar, com mais frequência nos tricomas glandulares, células epidérmicas e feixe vascular. As proteínas (Figura 3A) e os compostos fenólicos (Figura 3B) reagiram somente nos tricomas e na epiderme. O amido (Figura 3C) e a mucilagem (Figura 3E) foram encontrados depositados nos feixes vasculares (xilema e floema) e em algumas células do parênquima fundamental.

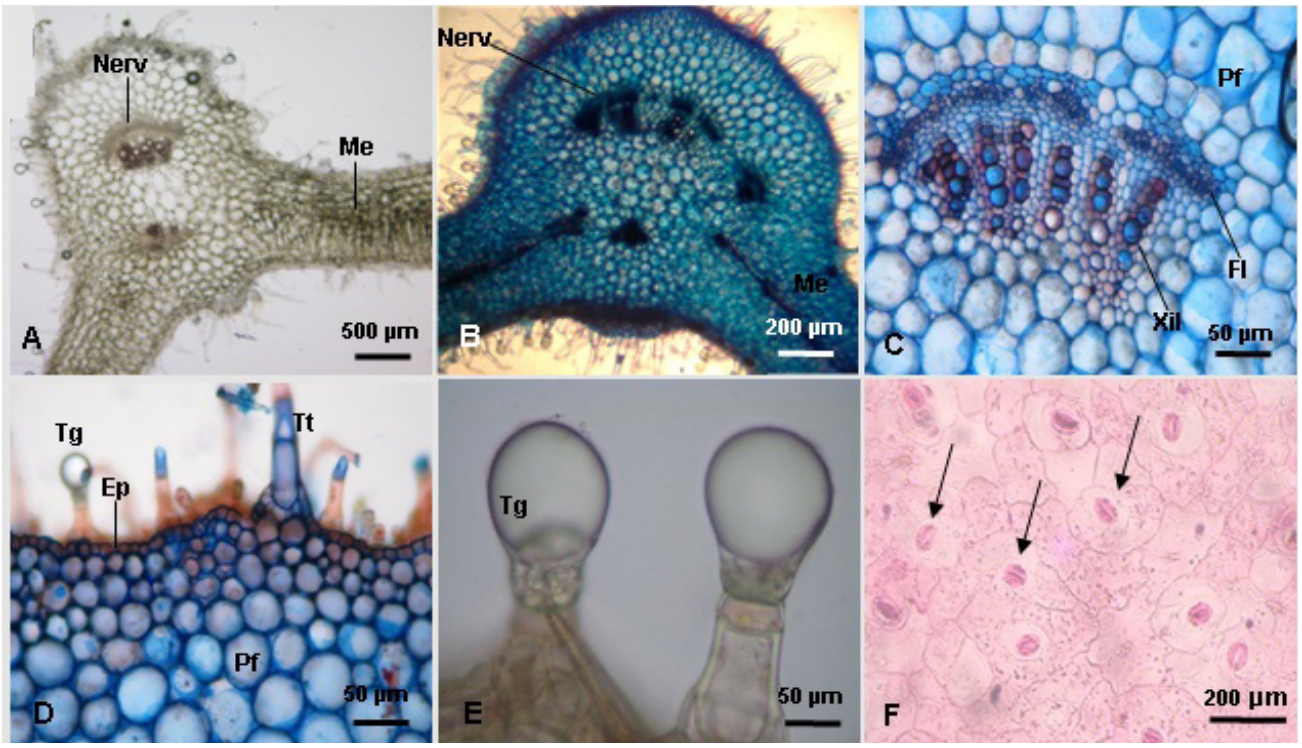

FIGURA 2. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. Em A e B corte transversal da nervura principal (Nerv) e mesofilo (Me) em aumento de 4x e 10x, respectivamente; C. Nervura central em destaque com aumento de 40x. Xilema (Xil), Floema (Fl) e células do parênquima fundamental (Pf); D. Epiderme com tricomas glandulares (Tg) e tectores (Tt) (em aumento de 40x; E. Tricomas glandulares em aumento de 40x; D. Epiderme da face abaxial em vista frontal apresentando estômatos (aumento de 10x).

Os terpenoides (Figura 3G) e os lipídeos (Figura 3H) foram observados apenas nos tricomas. As pectinas (Figura 3D) foram encontradas restritas às células epidérmicas em *P. amboinicus*. Os alcaloides (Figura 3F) foram evidenciados em células da epiderme, tricomas e parênquima fundamental. A lignina foi observada somente no xilema (Figura 3I). As análises histoquímicas realizadas por Mota et al. (2013) em *Plectranthus grandidentatus* indicaram os terpenoides e flavonoides como principais componentes encontrados. Estudos histoquímicos com plantas deste gênero são escassos, o que inviabiliza a comparação quanto ao conteúdo químico presente nas respectivas espécies.

Trabalhos realizados por Bandeira et al. (2011) em *P. amboinicus*, *P. barbatus*, *P. grandis* e *P. neochilus* indicaram que havia diferenças significativas quanto ao teor e constituição química do óleo essencial. Os autores destacaram ainda que o trans-cariofileno era o componente que se apresentava em elevada concentração nos óleos, sendo encontrado como majoritário em *P. amboinicus* e *P. neochilus*.

A composição química destes óleos também influencia na relação ecológica estabelecida com o ambiente. Para Knaak & Fiuza (2010) os óleos essenciais são importantes nos processos de polinização, proteção contra herbivoria e inibição da germinação, sendo estes compostos também empregados na medicina tradicional devido à sua ação analgésica, antibacteriana e antioxidante.

Quanto ao isolamento dos fungos endofíticos das folhas de *P. amboinicus*, foi possível obter 90 colônias fúngicas, tendo como principais representantes os fungos dos gêneros *Aspergillus* (30%) (Figura 4A), *Trichoderma* (30%) (Figura 4C), *Fusarium* (20%) (Figura 4B) e *Mycelia sterilia* (20%) (Figura 4D). Diferentemente do que foi encontrado neste trabalho, Mussi-Dias et al. (2012) isolaram de folhas de *P. barbatus* somente o fungo do gênero *Phomopsis* sp.

Estudos realizados em outras espécies da família Lamiaceae também verificaram a presença de fungos endofíticos. Naik et al. (2014) descreveram o isolamento em plantas medicinais como *Leuca aspera* e *Ocimum sanctum,* onde o *Aspergillus* sp. foi encontrado como o fungo mais predominante. Das raízes de *Hyptis marrubioides*, Vitorino et al. (2012) isolaram os fungos *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma, Papulaspora* e muitas bactérias endofíticas.

Souza et al. (2004) sugerem que a entrada desses micro-organismos endofíticos se dá principalmente através das folhas, pois elas

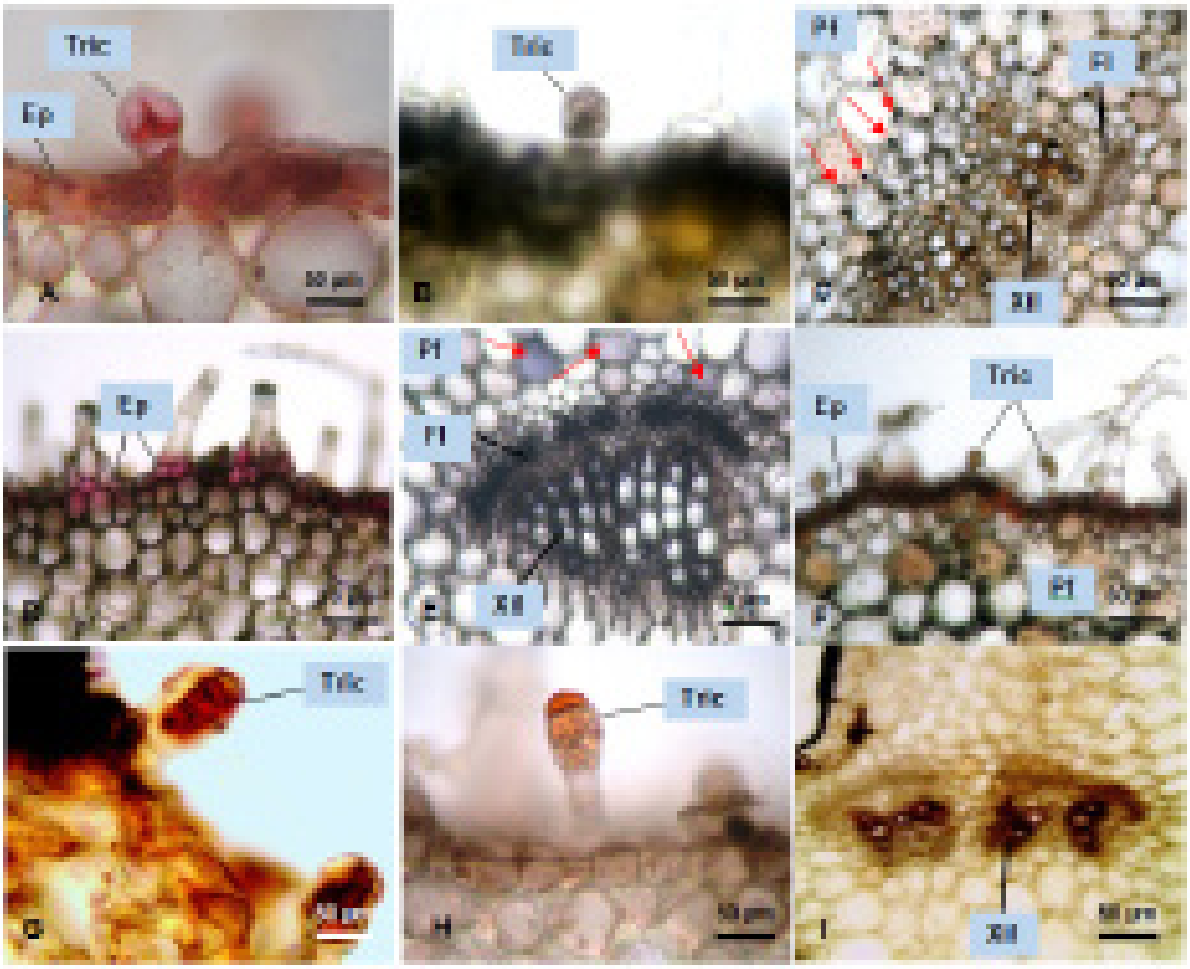

FIGURA 3. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. A. Proteínas reagindo nas células da epiderme (Ep) e nos tricomas glandulares (Tric) B. Compostos fenólicos nos tricomas; C. Amido reagindo no floema (Fl), xilema (Xil) e como grânulos nas células do parênquima fundamental (Pf); D. Pectinas reagindo na epiderme; E. Mucilagem reagindo nos feixes vasculares e células do parênquima fundamental; F. Alcaloides reagindo nas células da epiderme e tricomas; G. Terpenoides reagindo nos tricomas; H. Lipídios no tricoma glandular; I. Lignina no xilema.

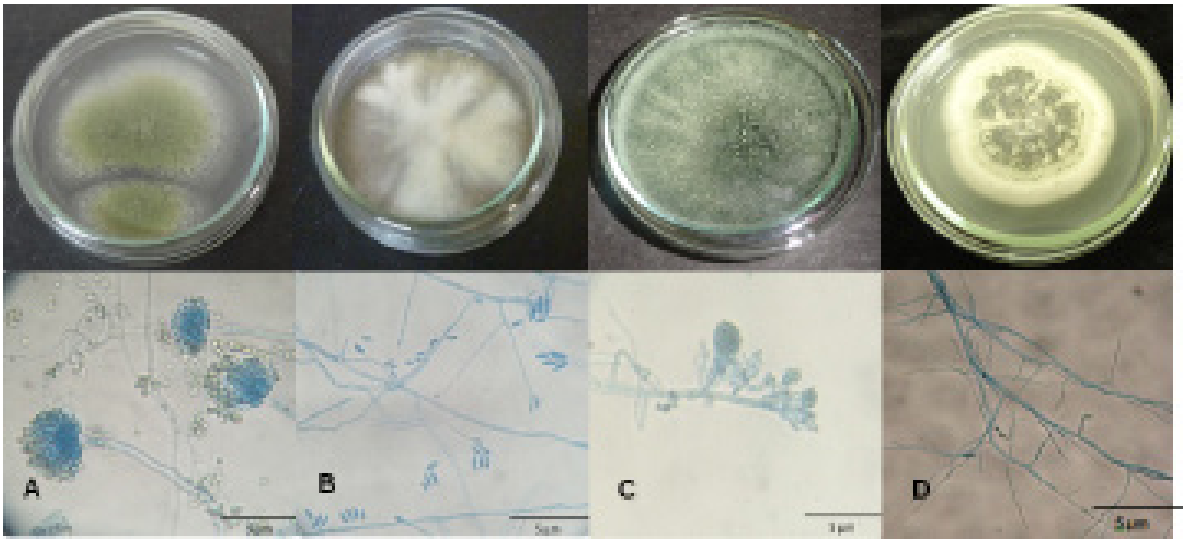

FIGURA 4. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. Crescimento em placa de Petri (em cima) e estruturas de reprodução (embaixo. Aumento de 400x). A. *Aspergillus* sp. B. *Fusarium* sp. C. *Trichoderma* sp. D. *Mycelia sterilia.* (Fonte: Casas, 2011).

apresentam tecidos mais frágeis e expostos, devido à presença dos estômatos que são prováveis portas de entrada. Essa frequência de endófitos influencia na proteção das folhas e a colonização pode variar dependendo de sua idade, sendo que folhas mais jovens apresentam menos atividades protetoras que folhas mais velhas, devido à presença de metabólitos secundários produzidos por folhas maduras (Maki, 2006).

***Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.**

De acordo com Gaitán (2006), fungos endofíticos estabelecem com seus hospedeiros relações simbióticas complexas e, tanto nas zonas temperadas como nas tropicais, há especificidade dos endossimbiontes por tecidos vegetais particulares. Paes et al. (2014) relataram a distribuição de gêneros de fungos endofíticos em diferentes órgãos vegetais de 3 espécies medicinais, indicando a possibilidade de predileção de alguns gêneros por tecidos ou órgãos específicos das plantas. Essas informações podem ser relevantes no sentido de indicar os órgãos vegetais com maior potencial biotecnológico para o desenvolvimento de novas soluções para a indústria farmacêutica, agronômica e alimentícia, dentre outras.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos por este trabalho podem contribuir com informações acerca da anatomia foliar de *P. amboinicus,* fornecendo dados que podem ajudar na identificação do táxon. Foi possível verificar também a presença de diferentes metabólitos secundários que possibilitam a inclusão desta espécie em estudos de prospecção por substâncias com atividade biológica. A análise micológica permitiu o isolamento de fungos endofíticos com 3 gêneros predominantes (*Aspergillus*, *Fusarium* e *Trichoderma*), fornecendo dados também sobre as interações ecológicas estabelecidas com outros organismos.

REFERÊNCIAS

ABDEL-MOGIB, M.; ALBAR, H.A.; BATTERJEE, S.M. Chemistry of the Genus *Plectranthus*. **Molecules**, v.2, n.7, p.271-301, 2002.

AZEVEDO, J. **Micro-organismos endofíticos**. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J. Ecologia microbiana. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 117–137.

BANDEIRA, J.M.; BARBOSA, F.F.; BARBOSA, L.M.P.; RODRIGUES, I.C.S.; BACARIN, M.A.; PETERS, J.A.; BRAGA, E.J.B. Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. **Rev. Bras. Plantas Med.**, v.13, n.2, p.157-164, 2011.

BARNETT; H.L: HUNTER, B.B **Illustrated genera of imperfect fungi**. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1972. 241p.

CASTILLO, R.A.M.; GONZÁLEZ, V.P. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. **Rev. Cubana Plantas Med.**,v.33, p.23-32. 1999.

FURR, M.; MAHLBERG, P. G. Histochemical analyses of lacticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **J. Natural Prod.**, v. 44, p.153-159, 1981.

GAITÁN, M. A. G. Hongos endófitos tropicales: conocimiento actual y perspectivas. **Acta Biol. Colombiana**, v.11, supl. 1, p.3-20, 2006.

GANTER, P.; JOLLÉS, G. **Histochimie normale et pathologique**. V. 1. Paris: Gauthier Villars, 1969. 1904p.

HAY, R.K.M.; SVOBODA, K.P. Botany. In: HAY, R.K.M.; WATERMAN, P.G. **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. England: Longman Group, 1993, p.5-22

JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry**: **principles and practice**. San Francisco: WH Freeman, 1962. 408p.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523p.

JUNQUEIRA, L.C.U.; JUNQUEIRA, L.M.M.S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Editora Santos, 123p. 1983.

KINUPP, V.F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. 768 p.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotrop. Biol. Conserv.**, v.5, n.2, p.120-132, 2010.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198 p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudo da Flora, 2002. 544p.

LUKHOBA, C.W.; SIMMONDS, M.S.J.; PATON, A.J. *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses. **J. Ethnopharmacol.**, v.103, n.1, p.1-24, 2006.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin percursor in roots of cotton seedlings. **Phytopathol.**, v.64, p.1297-1302, 1974.

MAGALHÃES, W.C.S.; MISSAGIA, R.V.; COSTA, F.A.F.; COSTA, M.C.M. Diversidade de fungos endofíticos em candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish. **Cerne**, v.14, n.3, p.267-273, 2008.

MAKI, C.S. **Diversidade e potencial biotecnológico de fungos endofíticos de cacau (*Theobroma cacao* L.)**. 2006. 127p. Tese de Doutorado em Agronomia – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

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

METCALFE, C.R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotiledons, leaves, steam, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Oxford: Clarendon Press,1957. 560p.

MOTA, L.; FIGUEIREDO, A.C.; PEDRO, L.G.; BARROSO, J.G.; ASCENSÃO, L. Glandular trichomes, histochemical localization of secretion, and essential oil composition in *Plectranthus grandidentatus* growing in Portugal. **Flavour Fragr. J.**, v.28, n.6, p.393-401, 2013.

MUSSI-DIAS, V.; ARAÚJO, A.C.O.; SILVEIRA, S.F.; ROCABADO, J.M.A.; ARAÚJO, K.L. Fungos endofíticos associados a plantas medicinais. **Rev. Bras. Plantas Med.**, v.14, n.2, p.261-266, 2012.

NAIK, B.S.; KRISHNAPPA, M.; KRISHNAMURTHY, Y.L. Biodiversity of endophytic fungi from seven herbaceous medicinal plants of Malnad region, Western Ghatsm Southern **India J. Forestry Res.**, v.25, n.3, p.707-711, 2014.

OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA, E.O.; SOUZA, E.L.; VIEIRA, W.N L.; FREIRE, K.R.L.; TRAJANO, V.N.; LIMA, I.O.; SILVA-FILHO, R.N. Interference of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng essential oil on the anti-Candida activity of some clinically used antifungals. **Rev. Bras. Farmacogn.,** v.17, n.2, 186-190, 2007.

OLIVEIRA, A.B. 2011. 109p. **Estudo estrutural e farmacognóstico de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. Ex Benth. (Lamiaceae): uma planta medicinal utilizada por populações ribeirinhas do Amazonas**. Tese de Doutorado em Botânica – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas.

PAES, L.S.; DE LUCENA, J.M.V.M.; BENTES, J.L.S.; MARQUES, J.D.O.; CASAS, L.L.; MENDONÇA, M.S. Endophytic mycobiota of three amazonian medicinal herbs: *Stachytarpheta cayennensis* **(**Verbenaceae), *Ayapana triplinervis* (Asteraceae) and *Costus spicatus* (Costaceae). **Int. J. Botany**, v.10, n.1, p.24-29, 2014.

PEARSE, A.G.E. **Histochemistry theoretical and applied**: **preparative and optical technology**. 4.ed. Edinburgh: Churchill Livingston, 1980. 439 p.

PETRINI, O. **Fungal endophytes of tree leaves**. In: ANDREWS, J.H.; HIRANO, S.S. Microbial ecology of leaves. New York: Springer-Verlag, 1991. p.179-187.

PIMENTEL, I.C. **Fungos endofíticos do milho (*Zea mays* L.) e da soja (*Glycine max* (L.) Merrril e seu potencial valor biotecnológico no controle de pragas agrícolas**. 2001. 153p. Tese de Doutorado - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Paraná.

PIZZOLATO, T.D.; LILLIE, R.D. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. The **J. Histochem. Cytochem.**, v. 21, p. 56-64, 1973.

RICE, L.J.; BRITS, G.J.; POTGIETER, C.J.; VAN STADEN, J. *Plectranthus:* A plant for the future? **South Afr. J. Botany**, v.77, p.947–959, 2011.

SELLAR, W. *Óleos que curam***. O poder da aromaterapia**. Rio de Janeiro: Nova Era, 2002. 230p.

SOUZA, A.Q.L DE; SOUZA, A.D.L. DE; ASTOLFI FILHO, S.; PINHEIRO, M.L.B.; SARQUIS, M.I.M.; PEREIRA, J.O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) Rich e *Strychnos cogens* Bentham. **Acta Amazonica**, v.34, n.2, p.185-195, 2004.

TAKAHASHI, J.A.; LUCAS, E.M.F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. **Química Nova**, v.31, n.7, p.1807-1813, 2008.

TÔRRES, A.R.; OLIVEIRA, R.A.G.; DINIZ, M.F.F.M.; ARAÚJO, E.C. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. **Rev. Bras. Farmacogn.**,v.15, p.373-380, 2005.

VITORINO, L.C.; SILVA, F.G.; SOARES, M.A.; SOUCHIE, E.L.; LIMA, W.C. The isolation and characterization of endophytic microorganisms from *Hyptis marrubioides* Epling roots. **African J. Biotechnol.**, v.11, n.64, p.12766-12772, 2012.