



## Caracterização Morfoanatômica das Folhas Jovens de *Eucalyptus globulus* Labill ssp. *bicostata* (Maiden et al.) J.B. Kirkpat. (Myrtaceae)

Letícia R. L. MALINOWSKI\*, Tomoe NAKASHIMA & Yedo ALQUINI

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná.  
Av. Prof. Lothário Meissner, 632, CEP: 80210-170, Curitiba, Paraná, Brasil

**RESUMO.** *Eucalyptus globulus* ssp. *bicostata*, árvore representante da família Myrtaceae, é aclimatada no extremo sul do Brasil. Apresenta como constituinte majoritário do óleo essencial o eucaliptol, aplicado medicinalmente. O estudo morfoanatômico dessa subespécie foi realizado com a finalidade de obtenção de novos dados. A folha é ovalado-oblonga, com ápice mucronado, margem lisa, oposta e séssil. Estômatos anomocíticos (folha hipostomática), epiderme unisseriada, cutícula espessa e mesofilo dorsiventral. Presença de cavidades secretoras de óleo essencial por todo o mesofilo. Nervura central composta por um feixe vascular de maior porte voltado para a face abaxial e por dois feixes de menor porte voltado para a face adaxial. Feixes vasculares, em sua maioria, bicolaterais, rodeados por bainha parenquimática contendo idioblastos com conteúdo fenólico. Células colenquimáticas subepidérmicas envolvem feixes e nervura central. Observou-se idioblastos com oxalato de cálcio em forma de drusas. Análise ultra-estrutural revelou aspectos da cera epicuticular.

**SUMMARY.** “Juvenile Leaf Morpho-anatomical Characters of *Eucalyptus globulus* Labill ssp. *bicostata* (Maiden et al.) J. B. Kirkpat. (Myrtaceae)”. *Eucalyptus globulus* ssp. *bicostata*, a tree member of Myrtaceae family, is acclimated in the extreme south of Brazil. Eucalyptol is the main component of the essential oil, used as medicinal. The study of leaf morpho-anatomical characters about this subspecies was done in order to obtain new information. The leaf is ovate-oblong, mucronate apex, plain margin, opposite and sessile. It presents anomocytic stomata (hypostomatic leaf), uniseriate epidermis, thick cuticle and dorsiventral mesophyll. Secretory essential oil cavities are present in the mesophyll. The central vein is formed by one abaxial vascular bundle bigger than the two inverse adaxial vascular bundles. Vascular bundles, in majority, are bicolaterals, encircled by a parenchymatic sheath containing idioblasts with fenolic components. Subepidermal colenchymatic cells surround each vascular bundles and central vein. It was noticed the presence of idioblasts with calcium oxalate of druses type. Ultra-structural analysis evidenced characteristics of epicuticular waxes.

### INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae apresenta cerca de 100 gêneros com aproximadamente três mil espécies distribuindo-se em todo o mundo, mas com dois grandes centros de dispersão: as Américas e a Austrália<sup>1</sup>. As espécies são cultivadas com finalidade ornamental, pelos frutos comestíveis, para madeira e lenha e/ou como fonte de essências de valor comercial<sup>2</sup>. Além dessas utilidades, os representantes dessa família são conhecidos por apresentarem atividades biológicas, como antimicrobiana e antioxidante<sup>3-5</sup>.

O gênero *Eucalyptus* é um dos maiores da

família Myrtaceae, com cerca de 500 espécies<sup>6</sup>. Além de se destacar economicamente pela madeira de reflorestamento, apresenta espécies com várias propriedades: antisséptica, adstringente, antiinflamatória, antimicrobiana, antioxidante, repelente, cicatrizante e desinfetante<sup>7-12</sup>. Também é usado como expectorante pulmonar e como descongestionante nasal e da garganta sob forma de inalações<sup>13</sup>. As folhas também são usadas como aditivos para alimentos, e os extratos têm sido aplicados em formulações cosméticas<sup>14</sup>.

A maioria dos princípios ativos dos vegetais

**PALAVRAS-CHAVE:** *Eucalyptus globulus* ssp. *bicostata*, Morfoanatomia, Myrtaceae.

**KEY WORDS:** *Eucalyptus globulus* ssp. *bicostata*, Morpho-anatomy, Myrtaceae.

\* Autor a quem correspondência deve ser enviada. E-mail: leti07@gmail.com

medicinais são substâncias dos seus metabolismos secundários e é a variedade desses componentes que possibilita a descoberta de novos medicamentos <sup>15</sup>. O caráter medicinal de espécies do gênero *Eucalyptus* está diretamente ligado, principalmente, à presença majoritária (acima de 70%) de um componente do óleo essencial, o eucaliptol (1,8-cineol). No Brasil, a principal espécie cultivada produtora desse composto é o *Eucalyptus globulus* Labillardière <sup>16</sup>.

O *Eucalyptus globulus* ssp. *bicostata* é nativo da Austrália e ocorre em regiões montanhosas nos estados de Nova Gales do Sul e Vitória <sup>17</sup>. No Brasil é aclimatado principalmente no extremo sul do país e ainda é pouco explorado. Estudos relacionados a essa subespécie, sobre a composição do óleo essencial das folhas, apontam o 1,8-cineol (eucaliptol) como componente majoritário <sup>18,19</sup>. Devido à escassa literatura sobre o *E. globulus* ssp. *bicostata* no Brasil, decidiu-se aprofundar os conhecimentos sobre esse vegetal, iniciando com a caracterização morfoanatômica. Esse estudo é promissor porque nosso país já possui uma grande área ocupada pelos reflorestamentos com eucaliptos e as folhas do eucalipto correspondem a um bioproduto do corte das árvores. O uso destas partes aéreas como recurso para a biomassa é considerado um tema importante para pesquisa <sup>14</sup>. Como o *E. globulus* ssp. *bicostata* não é intensivamente cultivado no nosso país, essa subespécie pode ser uma alternativa de plantio, visando a obtenção de óleo essencial.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O material foi coletado no campo experimental da Embrapa Florestas, Colombo, Paraná, Brasil, em 2008. A identificação da exsiccata encontra-se sob número de registro 896, depositada no Herbário da Embrapa Florestas. Para a análise das dimensões do comprimento e da largura do limbo foram mensuradas dez folhas e obtida a média. Os ramos de folhas jovens foram coletados e algumas folhas foram selecionadas a partir do quinto nó, do ápice em direção à base do ramo. Com o auxílio de uma lâmina cortante, à mão livre, foram realizadas diferentes secções nas folhas, da porção mediana e da extremidade do limbo e da nervura mediana, aproximadamente com 1 cm de largura por 0,5 cm de comprimento. As folhas foram imersas durante dois dias para fixação em uma solução de F.A.A. (ácido acético glacial-formaldeído-álcool etílico 70%) <sup>20</sup>, e então foram armazenadas em álcool etílico 70%. Duas regiões da folha fo-

ram consideradas: o limbo e a nervura, uma vez que as folhas jovens são sésseis.

Foram preparadas lâminas semipermanentes através de secções paradérmicas (faces abaxial e adaxial) e transversais, à mão livre com o uso de uma lâmina cortante <sup>21</sup>. Aqueles mais finos foram corados com azul de astra e fucsina básica <sup>22</sup>. As lâminas foram montadas em glicerina 50% (v/v) em água purificada e a lutagem foi feita com esmalte de unha incolor. Com as secções transversais foram realizados testes histoquímicos com os seguintes reativos: glicerina iodada para presença de amido <sup>21</sup>, Sudam III para o óleo e compostos lipídicos <sup>23</sup>, floroglucina clorídrica para lignina <sup>24</sup>, ácido sulfúrico 10% para verificar a origem do cristal <sup>25</sup> e cloreto férrico para compostos fenólicos <sup>20</sup>. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico Olympus BX 40 e os registros fotográficos foram realizados no microscópio óptico Olympus BX 50.

Para a preparação das lâminas permanentes os cortes fixados e armazenados em álcool etílico 70% foram desidratados em álcool etílico 95% por 30 min. A técnica empregada foi a da inclusão em glicol metacrilato <sup>26</sup>. As etapas de preparo da amostra foram: parainfiltração, infiltração e polimerização. A partir do material embocado foram obtidas secções transversais, de 7 a 10 µm de espessura, da região do limbo e da nervura central. O micrótomo utilizado foi o Olympus CUT 4055 com navalha modelo C. Os cortes foram hidratados, distendidos em lâminas e secos em mesa térmica. A coloração aplicada foi azul de toluidina <sup>27</sup> e a lutagem realizada com Permount®. As lâminas foram analisadas e as fotomicrografias feitas em no microscópio óptico Olympus BX 50, sendo que as escalas micrométricas foram fotografadas e ampliadas nas mesmas condições ópticas.

Para a análise ultra-estrutural, em microscópio eletrônico de varredura (MEV), as secções, em etanol 70%, passaram por uma desidratação etanólica ascendente (álcool etílico 90% e absoluto), sendo depois realizado o ponto crítico e a metalização com ouro <sup>28</sup>, para a observação no microscópio. Foi feita também a caracterização com o material seco, que nesse caso passou apenas pela metalização com ouro. O microscópio eletrônico de varredura utilizado foi o Philips XL 30, com o detector *Secundar Eletrons*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

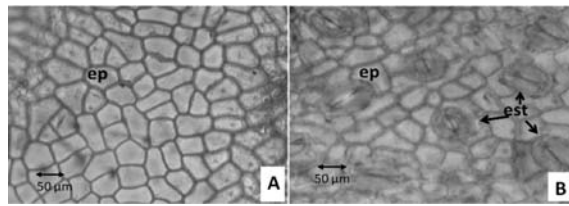
A análise morfológica externa caracterizou a folha jovem de *E. globulus* ssp. *bicostata* como ovalado-oblonga, com ápice mucronado, mar-

gem e superfície lisas, limbo íntegro, nervação peninérvia, nervura da face abaxial saliente, consistência coriácea, discolor (face adaxial verde escuro e face abaxial esbranquiçada pela presença de cera), séssil e oposta. O comprimento foliar varia entre 7 a 14,5 cm e a largura varia entre 2 a 6,5 cm (Fig. 1). Essas características se assemelham com as das folhas jovens de *E. globulus*<sup>13,29,30</sup>. As folhas adultas apresentam morfologia diferente das folhas jovens e como consequência a anatomia também não é a mesma<sup>29,30</sup>. Este estudo foi limitado à caracterização de folhas jovens.



**Figura 1.** Ramo de *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. *bi-costata* (Maiden et al.) J.B. Kirkpat. (Myrtaceae), destacando aspecto das folhas jovens.

Foram observados idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio em formato de drusas, agrupados ou solitários, muito comum em representantes da família Myrtaceae<sup>13,29,31,32</sup>. Foram observados estômatos apenas na face abaxial, sendo a folha, portanto, hipoestomática (Figs. 2A, 2B). Esta característica confere com a descrita na literatura para eucaliptos<sup>33</sup> e para folhas jovens de *E. globulus*<sup>30</sup> e *E. globulus* ssp. *globulus*<sup>34</sup>. Os estômatos são do tipo anomocítico, igualmente aos encontrados no *E. globulus* (não há menção do estágio da folha)<sup>32</sup>, ou seja, não apresentam células subsidiárias (Fig. 2B). Esta característica é mencionada para este gênero<sup>35</sup>, mas no *E. camaldulensis*, os estômatos variam entre anomo e anisocíticos<sup>36</sup>. Estômatos em ambas as faces da folha foram descritos no *Eucalyptus grandis*<sup>37</sup>, no *E. smithii*<sup>38</sup>, nas folhas adultas de *E. globulus* ssp. *globulus*<sup>34</sup> e *E. glo-*

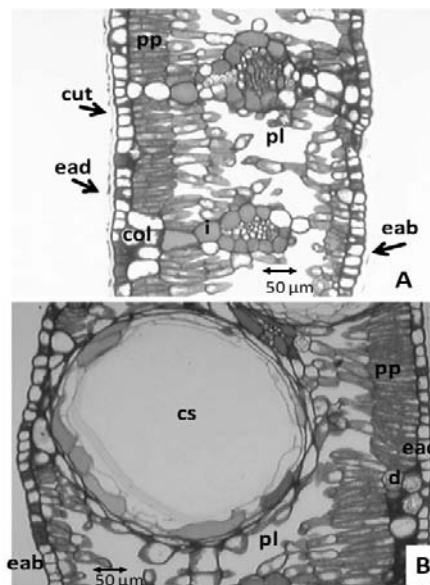


**Figura 2.** Secção paradérmica da folha: **A-** Face adaxial. **B-** Face abaxial revelando presença de estômatos do tipo anomocítico. **ep:** epiderme, **est:** estômato.

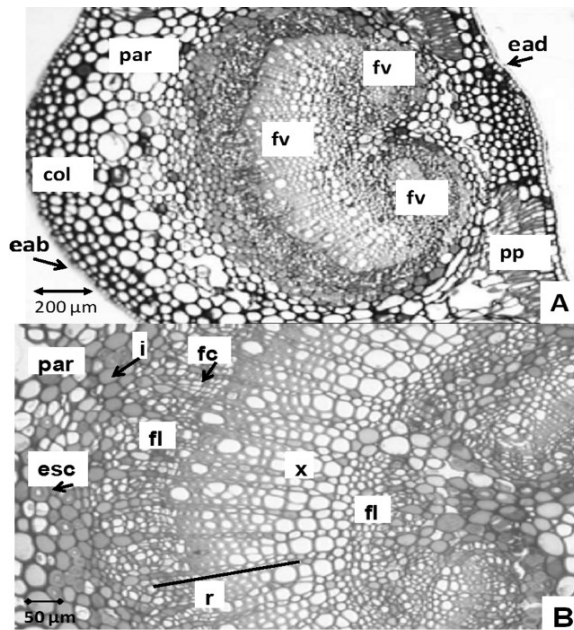
*bulus*<sup>30</sup> e no *E. camaldulensis*<sup>36</sup>. As células epidérmicas são de formato poliédrico a levemente arredondadas (Figs. 2A, 2B).

Os testes histoquímicos evidenciaram resultados compatíveis com os da literatura. Presença de compostos fenólicos, que também é citado para o *E. smithii*<sup>38</sup>. Os compostos fenólicos, além de serem freqüentes em todo mesofilo, são mais abundantes no parênquima, envolvendo os feixes vasculares, e no floema<sup>33</sup>. Dentre eles, os taninos estão presentes em grande quantidade<sup>31,35</sup>.

A epiderme é unisseriada, em ambas as faces, com a presença de cutícula nas epidermes abaxial e adaxial (Fig. 3A), assim como registrado nas folhas de *E. globulus*<sup>29,32</sup>. Na face adaxial a cutícula é mais espessada. O mesofilo é heterogêneo e assimétrico com o parênquima paliçádico voltado para a face adaxial, sendo



**Figura 3.** Secção transversal da lâmina foliar: **A-** epiderme uniestratificada, detalhe da cutícula espessa e mesofilo dorsiventral. **B-** detalhe da cavidade secretora de óleo essencial. **ead:** epiderme adaxial, **eab:** epiderme abaxial, **cut:** cutícula, **pp:** parênquima paliçádico, **pl:** parênquima lacunoso, **col:** colênquima, **i:** idioblasto, **cs:** cavidade secretora, **d:** idioblasto com drusa.

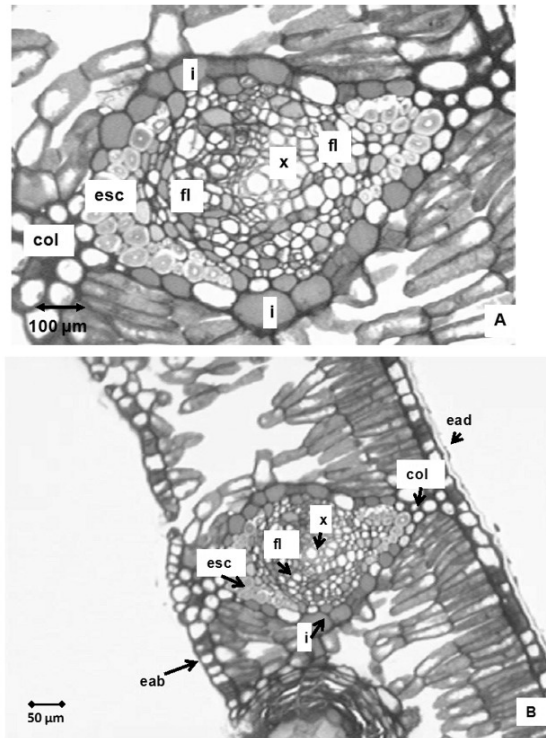


**Figura 4.** Seção transversal da nervura central da folha: **A**- detalhe da distribuição dos feixes, 1 feixe de maior porte voltado para a face abaxial e 2 feixes de menor porte voltado para a face adaxial; células colenquimáticas subepidérmicas; parênquima fundamental. **B**- detalhe do feixe de maior porte de organização bicolateral. **ead**: epiderme adaxial, **eab**: epiderme abaxial, **col**: colênquima, **par**: parênquima fundamental, **pp**: parênquima paliçádico, **fv**: feixe vascular, **esc**: esclerênquima, **fl**: floema secundário, **x**: xilema secundário, **i**: idioblasto, **fc**: faixa cambial, **r**: raio parênquimático.

formado por duas camadas, e o lacunoso para a face abaxial (Fig. 3A). Este mesmo tipo foi encontrado na maioria das espécies de eucalipto estudadas<sup>37</sup>, principalmente em folhas jovens<sup>30,34,35</sup>. Nas folhas de *E. smithii*, nas folhas de *E. camaldulensis* e nas folhas adultas de *E. globulus* ssp. *globulus* e *E. globulus*, o mesofilo encontrado foi do tipo heterogêneo simétrico, ou seja, com parênquima paliçádico em ambas as faces da epiderme<sup>30,34,36,38</sup>.

As cavidades secretoras de óleo essencial encontram-se abaixo da epiderme nas duas faces da folha e ao longo de todo o mesofilo (Fig. 3B). As bolsas secretoras são de origem esquizógena, para *E. globulus*<sup>13,29</sup>.

A nervura central é composta por um feixe vascular de maior porte voltado para a face abaxial e por dois feixes de menor porte voltados para a face adaxial (Figs. 4A, 4B). Mesma organização é citada na literatura para eucaliptos em geral<sup>33</sup>. Na nervura mediana encontram-se células colenquimáticas subepidérmicas (Fig. 4A), também presentes em *E. globulus*<sup>13,29,32</sup>.



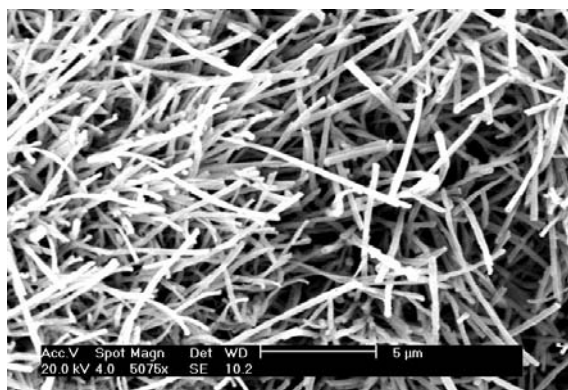
**Figura 5.** Seção transversal da lâmina foliar: **A**- detalhe de um feixe vascular de médio porte com organização bicolateral. **B**- detalhe de um feixe vascular de pequeno porte colateral. **ead**: epiderme adaxial, **eab**: epiderme abaxial, **col**: colênquima, **esc**: esclerênquima, **fl**: floema, **x**: xilema, **i**: idioblasto.

Os feixes vasculares do limbo, em sua maioria, são bicolaterais, mas o floema adaxial nem sempre está claramente evidenciado<sup>31</sup> (Fig. 5A). Os feixes de menor porte tendem a ser colaterais (Fig. 5B). Ao redor dos feixes, formando uma bainha parenquimática, ocorrem idioblastos contendo compostos fenólicos, em especial, taninos (Figs. 5A, 5B).

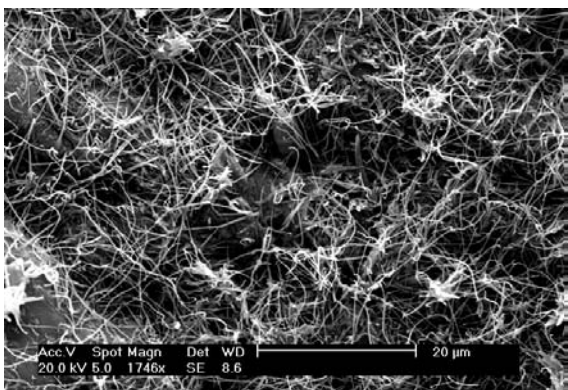
Também foram observadas células colenquimáticas subepidérmicas nos feixes vasculares, e também, em alguns feixes, células esclerênquimáticas (Figs. 5A, 5B), o que confere com dados da literatura para *E. globulus*<sup>13,32</sup>.

Na análise ultra-estrutural foi evidenciada a organização da cera epicuticular. Esta cera pode apresentar diferentes formas. Em algumas espécies ela é lisa e em outras é coberta por partículas chamadas de cristalóides<sup>39</sup>. Em espécies de eucaliptos são comuns ceras do tipo cristalóide<sup>40</sup>.

Na subespécie em questão foram observadas diferenças entre as ceras da face abaxial e adaxial. Na face adaxial foi observada cera epicuticular cristalóide do tipo filamentososa (Fig. 6), que são longos e finos cristalóides. Na face abaxial ocorre cera cristalóide do tipo túbulo (Fig. 7),



**Figura 6.** Detalhe da face adaxial com presença de cera epicuticular em forma de filamento (MEV).



**Figura 7.** Detalhe da face abaxial com presença de cera epicuticular em forma de túbulo (MEV).

cuja característica é o aspecto cilíndrico com a extremidade aberta. Para o *E. globulus*, segundo a composição química, o túbulo é classificado como di-cetonas, cujo principal constituinte são as  $\beta$ -dicetonas (C33)<sup>39,40,41</sup>. Como a ssp. *bicostata* trata-se de uma derivação do *E. globulus*, supõe-se que a origem química seja a mesma, mas testes químicos não foram realizados para tal comprovação.

As folhas jovens apresentam grande concentração de cera epicuticular, e a prevalência desta cera é maior na face abaxial, assim como foi constatado no *E. globulus* ssp. *pseudoglobulus*<sup>42</sup>.

Para certos insetos a presença de cera é um indicador do local correto para a deposição dos ovos. Como as folhas jovens apresentam menor peso específico, elas são ingeridas mais facilmente, então representantes de mariposas reconhecem essas folhas pela presença expressiva de cera na face abaxial, onde depositam os ovos<sup>42</sup>.

## CONCLUSÕES

As características evidenciadas são aquelas comumente encontradas em representantes da família Myrtaceae e no gênero *Eucalyptus*. As folhas jovens do *E. globulus* ssp. *bicostata* apresentaram as mesmas características citadas para as folhas jovens da espécie da qual deriva, *E. globulus*. Quando adultas essas folhas modificam suas características, tanto morfológico como anatomicamente. Estudos envolvendo análise das folhas, em diversas fases de desenvolvimento se fazem prementes. A presença de taninos é relevante quanto à possível atividade biológica das folhas dessa subespécie.

**Agradecimentos.** Ao REUNI pelo apoio financeiro, ao Paulo Telles dos Santos (Embrapa Florestas), ao Laboratório de Microtécnica (UFPR), ao Centro de Microscopia Eletrônica (UFPR), ao Sérgio Henke (LAC-TEC), à bióloga Marina Azevedo, à Dra. Márcia Duarte.

## REFERÊNCIAS

1. Joly, A.B. (1998) *Botânica - Introdução à taxonomia vegetal*. 12 ed. Companhia Editora Nacional, São Paulo.
2. Siani, A.C., A.L.F. Sampaio, M.C. Sousa, M.G.M.O. Henriques & M.F.S. Ramos (2000) *Biotechnol. Ciência Desenvol.* **16**: 38-43.
3. Auricchio, M.T., A. Bugno, S.B.M. Barros & E.M. Bacchi (2007) *Lat. Am. J. Pharm.* **26**: 76-81.
4. Marin, R., M.A. Apel, R.P. Limberger, M.C.B. Raseira, J.F.M. Pereira, J.A.S. Zuanazzi & A.T. Henriques (2008) *Lat. Am. J. Pharm.* **27**: 172-7.
5. Carvalho, A.A.T., M.C.C. Sampaio, F.C. Sampaio, A.F.M. Melo, K.X.F.R. Sena, A.A. Chiappeta & J.S. Higinio (2002) *Acta Farm. Bonaerense*. **21**: 255-8.
6. Cronquist, A. (1981) *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, New York.
7. Estanislau, A.A., F.A.S. Barros, A.P. Peña, S.C. Santos, P.H. Ferri & J.R. Paula (2001) *Rev. Bras. Farmacogn.* **11**: 95-100.
8. Cimanga, K., K. Kambu, L. Tona, S. Apers, T. de Bruyne, N. Hermans, J. Totté, L. Pieters & A.J. Vlietinck (2002) *J. Ethnopharmacol.* **79**: 213-20.
9. Franco, J., T. Nakashima, L. Franco & C. Boller (2005) *Rev. Bras. Farmacogn.* **15**: 191-94.
10. Lee, K.G. & T. Shibamoto (2001) *J. Sci. Food Agr.* **81**: 1573-9.
11. Silva, J., W. Abebe, S.M. Sousa, V.G. Duarte, M.I.L. Machado & F.J.A. Matos (2003) *J. Ethnopharmacol.* **89**: 277-83.

12. Yang, Y.C., H.C. Choi, W.S. Choi, J.M. Clark & Y.J. Ahn (2004) *J. Agr. Food Chem.* **52**: 2507-11.
13. Costa, A.F. (1975) *Farmacognosia*. 3 ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Vol. 1.
14. Takahashi, T., R. Kokubo & M. Sakaino (2004) *Lett. Appl. Microbiol.* **39**: 60-4.
15. Gurib-Fakim, A. (2006) *Mol. Aspects Med.* **27**: 1-93.
16. Vitti, A.M.S. & Brito, J.O. (2003) *Óleo essencial de eucalipto*. Documentos Florestais, 17.
17. Boland, D.J., J.J. Brophy & A.P.N. House (1991) *Eucalyptus leaf oils: use, chemistry, distillation and marketing*. ACIAR/CSIRO, Melbourne.
18. Viturro, C.I., A.C. Molina & C.I. Heit (2003) *J. Essent. Oil Res.* **15**: 206-8.
19. Dayal, R. & K.S. Ayyar (1986) *Planta Med.* **52**: 162.
20. Johansen, D.A. (1940) *Plant microtechnique*. Mc Graw Hill Book, New York.
21. Berlyn, G.P. & J.P. Miksche (1976) *Botanical microtechnique and cytochemistry*. Iowa University, Iowa.
22. Brito, J.F.A. & Y. Alquini (1996) *Arq. Biol. Tecnol.* **39**: 949-51.
23. Sass, J.E. (1951) *Botanical microtechnique*. 2 ed. Iowa State College, Ames.
24. Foster, A.S. (1949) *Practical plant anatomy*. D. Van Nostrand, Princeton.
25. Oliveira, F. & G. Akissue (1997) *Fundamentos de farmacobotânica*. 2 ed. Atheneu, São Paulo.
26. Feder, N. & T.P. O'Brien (1968) *Am. J. Bot.* **55**: 123-42.
27. Sakai, W.S. (1973) *Stain Technol.* **48**: 247-9.
28. Souza, W. (1998) *Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas*. Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, Rio de Janeiro.
29. Farmacopéia Brasileira (1996) Parte IV. Atheneu, São Paulo.
30. Johnson, E.D. (1926) *New Phytol.* **25**: 202-12.
31. Metcalfe, C.R. & L. Chalk (1965) *Anatomy of the Dicotyledons – leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford University Press, Londres.
32. Oliveira, F., G. Akisue & M.K. Akisue (1991) *Farmacognosia*. Atheneu, São Paulo.
33. Bona, C., M.R. Boeger & G.O. Santos (2004) *Guia Ilustrado de Anatomia Vegetal*. Holos, Ribeirão Preto.
34. James, S.A., W.K. Smith & T.C. Vogelmann (1999) *Am. J. Bot.* **86**: 198-207.
35. Tuffi- Santos, L.D., M. Thadeo, L. Iarema, R.M.S.A. Meira & F.A. Ferreira (2008) *Rev. Árv.* **32**: 769-79.
36. Tantawy, M.E. (2004) *Asian J. Plant Sci.* **3**: 274-83.
37. Tuffi- Santos, L.D., B.F. Sant'anna- Santos, R.M.S.A. Meira, R.A.S. Tiburcio, F.A. Ferreira, C.A.D. Melo & E.F.S. Silva (2008) *Planta Daninha* **26**: 9-16.
38. Fabrowski, F.J. (2002) *Eucalyptus smithii R. T. Baker (Myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial no sul do Brasil*. Curitiba, 225f. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Paraná.
39. Ensikat, H.J., M. Boese, W. Mader, W. Barthlott & K. Koch (2006) *Chem. Phys. Lipids* **144**: 45-59.
40. Barthlott, W., C. Neinhuis, D. Cutler, F. Ditsch, I. Meusel, I. Theisen & H. Wilhelmi (1998) *Bot. J. Linn. Soc.* **126**: 237-60.
41. Horn, H., Z. Kranz & J. Lamberton (1964) *Aust. J. Chem.* **17**: 464-76.
42. Steinbauer, M.J., F.P. Schiestl & N.W. Davies (2004) *J. Chem. Ecol.* **30**: 1117-42.