



Universidade de Brasília – UnB
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária -
Programa de Pós-graduação em Agronomia

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO (*Ocimum spp.*)

GISELLE BEBER CANINI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF
JULHO/2012



Universidade de Brasília – UnB
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária -
Programa de Pós-graduação em Agronomia

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO (*Ocimum spp.*)

GISELLE BEBER CANINI

ORIENTADOR: JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS

CO-ORIENTADOR: ROBERTO FONTES VIEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 53 /2012

BRASÍLIA/DF

JULHO/2012



Universidade de Brasília – UnB
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária -
Programa de Pós-graduação em Agronomia

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO (*Ocimum spp.*)

GISELLE BEBER CANINI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AGRONOMIA.

APROVADA POR:

JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS, Ph.D (UnB)
(ORIENTADOR) E-mail: kleber@unb.br
CPF: 002.288.181-68

ERNANDES RODRIGUES ALENCAR
E-mail: ernandesalencar@unb.br
CPF: 900.558.021-68

ROSA DE BELÉM DAS NEVES ALVES Dr., Embrapa Recursos Genéticos Biotecnologia
(EXAMINADORA EXTERNA) E-mail: rbelem@embrapa.br
CPF: 225.320.641-53

BRASÍLIA/DF, JULHO DE 2012

FICHA CATALOGRÁFICA

CANINI, GISELLE BEBER
CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE MANJERICÃO (*Ocimum* spp.).
/Giselle Beber Canini – Brasília, 2012.
111 p.: il.
Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e
Medicina Veterinária, 2012.

1. *Ocimum*. 2. Anatomia. 3. Constituição química. 4. Sazonalidade. I. Mattos, J.K.A. II.
Dr.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CANINI, G. B. Caracterização anatômica e composição química do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum* spp.). Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2012, 111p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DA AUTORA: Giselle Beber Canini
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO:
GRAU: Mestre ANO:2012

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Giselle Beber Canini
CPF: 006.158.751-65
Endereço : SQN 210 B1 C Apt 602
Telefone: +55 (61) 9978-0845

E-mail: gisellebc@agronoma.eng.br

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Brasília/UnB e ao curso de pós-graduação em Ciências Agrárias pela oportunidade na realização do curso.

Ao Professor Dr. Jean Kleber de Abreu Mattos pela paciência, orientação, incontáveis ensinamentos e por me acompanhar na carreira acadêmica desde a graduação.

Ao Dr. Roberto Fontes Vieira pela co-orientação, disposição e direcionamento na condução do trabalho.

Ao pesquisador Humberto Ribeiro Bizzo da Embrapa Agroindústria de alimentos pela colaboração nas análises cromatográficas.

À professora Dr. Dalva Graciano Ribeiro pela co-orientação e paciência que permitiram a realização do presente trabalho.

À pesquisadora Nádia Somavilla pela grande ajuda em todas as etapas das análises anatômicas.

Ao professor Dr. José Ricardo Peixoto, pela contribuição estatística.

À minha família, meus pais e irmã por todo apoio, ajuda e incentivo.

Aos meus amigos por toda ajuda e companheirismo.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para a execução do presente trabalho.

ÍNDICE

	Página
RESUMO GERAL	IX
GENERAL ABSTRACT	XI
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO	13
MATERIAL E MÉTODOS	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXO I – PRANCHAS FOTOGRÁFICAS	45
CAPÍTULO II	76
RESUMO	77
ABSTRACT	78
INTRODUÇÃO	79
MATERIAL E MÉTODOS	89
RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
CONCLUSÃO	103
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
ANEXOS II– ANÁLISES ESTATÍSTICAS	111

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO I	
Tabela 1.1 – Principais diferenças observadas entre os cinco acessos de <i>Ocimum</i> estudados.	38
CAPITULO II	
Tabela 2.1 – Dados climatológicos mensais de Brasília, Distrito Federal, no período de outubro de 2010 a outubro de 2011, coletados na estação meteorológica Brasília, cód. 83377.	90
Tabela 2.2 - Produção de matéria fresca e rendimento de óleo essencial do acesso Manjeriçãõ Colunar Roxo (<i>Ocimum basilicum</i> L.).	93
Tabela 2.3 - Rendimento do óleo essencial do acesso Manjeriçãõ Colunar Roxo (<i>Ocimum basilicum</i>) cultivado no Distrito Federal nas duas épocas coletadas: estação chuvosa, abril de 2011 e estação seca, setembro de 2011.	93
Tabela 2.4 - Constituintes químicos do óleo essencial de manjeriçãõ (<i>Ocimum basilicum</i> L.) cultivado no Distrito Federal, identificados por CG/MS e CG/FID.	96
Tabela 2.5 - Compostos majoritários do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivado no Distrito Federal identificados após a estação chuvosa(abril de 2011) e estação seca (setembro de 2011).	97
Tabela 2.6 - Percentagem média dos três compostos majoritários do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivado no Distrito Federal nas duas épocas coletadas: estação chuvosa, abril de 2011 e estação seca, setembro de 2011.	98
Tabela 2.7 - Quantidade média, em miligramas, dos compostos 1,8-cineol e linalol encontrados no óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivado no Distrito Federal nas duas épocas coletadas: estação chuvosa, abril de 2011 e estação seca, setembro de 2011.	102

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.1** – Fotos dos acessos utilizados no experimento. 25
- Figura 1.2** – Mudanças plantadas no campo para coleta de folhas para análise anatômica. 25
- Figura 1.3** – Bomba a vácuo. 25
- Figura 1.4** – Forma de silicone com o material vegetal emblocado em historesina. 25
- Figura 1.5** - Micrótomo rotativo e placa aquecedora. 26
- Figura 1.6** - Aparelho para recobrimento com ouro metálico e material após metalização. 26
- Figura 1.7** - Microscópio de Varredura Eletrônica JSM-7001F 26

CAPÍTULO II

- Figura 2.1** - Estrutura química do 1,8 cineol. 83
- Figura 2.2** - Estrutura química do linalol. 84
- Figura 2.3** - Estrutura química do eugenol. 85
- Figura 2.4** - Mudanças de Manjeriço Colunar Roxo sendo transplantadas para campo com os sulcos de plantio previamente adubados. 92
- Figura 2.5** - Estufa de ar circulante com o material vegetal acondicionado em sacos de papel furados para secagem. 92
- Figura 2.6** - Destilação das folhas nos *Clevengers* modificados. 92
- Figura 2.7** - Amostras coletadas e acondicionadas em *vials* para posterior análise cromatográfica 92
- Figura 2.8** – Cromatograma FID com picos de 1,8-cineol, linalol e eugenol do óleo essencial de *O. basilicum* evidenciados. 97
- Figura 2.9** – Curva padrão de 1,8-cineol, calculada a partir da área do gráfico dos padrões e dos valores encontrados nas amostras de *O. basilicum* obtidos por CG/FID. 101
- Figura 2.10** - Curva padrão de linalol, calculada a partir da área do gráfico dos padrões e dos valores encontrados nas amostras de *O. basilicum* obtidos por CG/FID. 101

RESUMO GERAL

O manjeriço (*Ocimum* spp) é uma planta da família Lamiaceae de porte variável, que apresenta propriedades aromáticas, condimentares e medicinais, com óleo essencial de grande valor de mercado. Espécies de manjeriço são facilmente encontradas em mercados de todo Brasil e apresentam grande variabilidade morfoanatômica e química. O objetivo do presente trabalho foi analisar anatomicamente cinco acessos do gênero *Ocimum*, encontrados no mercado de hortaliças de Brasília, DF e Salvador, BA, comparar suas características e avaliar a influência da sazonalidade no rendimento e composição química do óleo essencial, teor de linalol, 1,8-cineol e eugenol e na quantidade em miligramas de linalol e 1,8-cineol de um acesso de *Ocimum basilicum*. O experimento foi conduzido na Embrapa, Instituto de Biologia da UnB e Estação Biológica de Brasília, UnB, onde os acessos foram multiplicados por estaquia e cultivados em estufa tipo *glasshouse*. Após o enraizamento as plantas foram transplantadas para o campo, onde permaneceram por seis meses até a coleta das amostras para análise anatômica. As coletas para extração de óleo essencial foram efetuadas nas estações chuvosa e seca. Realizaram-se cortes transversais, paradérmicos e microscopia eletrônica de varredura das amostras. As extrações foram feitas por hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado e a análises foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu, GC 17A. A identificação dos constituintes foi feita baseada nos espectros de massa obtidos em Agilent 5973N. Na anatomia das folhas, foram observadas diferenças entre os acessos estudados em relação ao tamanho de tricomas tectores e sua presença nas faces adaxial e abaxial. Os tricomas glandulares foram observados em todos os acessos e em ambas as faces. O formato do pecíolo também apresentou diferenças entre os acessos. Os estômatos foram classificados como diacíticos. Foram observados três tipos de tricomas, que estão presentes em todos os acessos: tricomas tectores unisseriados e pluricelulares; tricomas glandulares capitados, ao mesmo nível da epiderme (com uma célula basal, um pedúnculo e duas células apicais) e tricomas glandulares peltados, em depressões

(com uma célula basal e de uma a quatro células apicais). Os três compostos majoritários encontrados no óleo essencial do acesso estudado foram linalol, 1,8-cineol e eugenol. Houve efeito de época para o rendimento de óleo essencial, a percentagem relativa dos compostos majoritários e a quantidade em miligramas de linalol, sendo que os maiores rendimentos foram observados na estação chuvosa. Os resultados permitem concluir que a caracterização anatômica é uma ferramenta essencial para a diferenciação de acessos comerciais do gênero *Ocimum* encontrados em mercados e evidenciam que a época de colheita é um fator determinante para aumento do rendimento e obtenção de óleo essencial de melhor qualidade.

Palavras chave: *Ocimum*, anatomia, óleo essencial, sazonalidade.

GENERAL ABSTRACT

The basil (*Ocimum spp*) is a complex of the Lamiaceae family of variable shape, that presents aromatical, condimentar, and medicinal properties, with essential oil of great value of market. Species of basil are easily found in markets of all Brazil and present great morpho-anatomic and chemical variability. The objective of the present work was to analyze anatomically five accesses of the *Ocimum spp*, found in the market of vegetables of Brasilia, DF and Salvador, BA, to compare its characteristics and to evaluate the influence of the seasonality in the yield and chemical composition of the essential oil, concerning linalol, 1,8-cineol and eugenol and in the amount in milligrams of linalol and 1,8-cineol of one access of *Ocimum basilicum*. The experiment was conducted in the Embrapa, the Institute of Biology of UnB and Biological Experiment Station of Brasilia-UnB, where the accesses had been multiplied by cutting and cultivated in glasshouse. After the rooting the plants had been cultivated in field, where they had remained for six months until the collection of the samples for anatomical analysis. The collections for essential oil extraction had been effected in the rainy and dry seasons. Transversal, paradermic cuts and electronic microscopy were done to analysis. The extractions were made by hidrodistillation in modified Clevenger device and the analyses had been carried out through Shimadzu chromatograph, GC 17A. The identification of the constituents was made based in the specters of mass gotten in Agilent 5973N. In the anatomy of leaves, differences between the accesses studied in relation to the size of tector trichomes in adaxial and abaxial faces of leaves were found. Glandular trichomes had been observed in all the accesses and in both leave faces. The shape of petiole also presented differences between the accesses as well as the number of tector trichomes and its presence in the leave faces. The stomata had been classified as diacític. Three types of trichomes had been observed to all the accesses: uniseriate and pluricellular tector trichomes; capitate glandular trichomes, the same the level of the

epidermis (with a basal cell, a stalk and two peltate cells) and glandular trichomes in depressions (with a basal cell and one to four apical cells). The three majority components found in the essential oil of one studied access had been linalol, 1,8-cineol and eugenol. It had effect of season for the essential oil yield, the relative percentage of majority components and the amount in milligrams of linalool. The biggest yields had been observed in the rainy station. The results allow conclude that the anatomical characterization is an essential tool for the differentiation of commercial accesses of the *Ocimum* found in markets and evidences that the time of harvest is a determinative factor for increase of the yield and essential oil attainment of better quality.

Key words: *Ocimum*, anatomy, essential oil, seasonality.

INTRODUÇÃO GERAL

O estudo das plantas medicinais brasileiras concentrou-se principalmente na área química, e este estudo foi realizado, em sua maioria, por cientistas estrangeiros (MATOS, 1990). O mesmo autor afirma que das centenas de espécies medicinais existentes, apenas cerca de 5% tem sido objeto de pesquisa.

Dentro da família Lamiaceae, o gênero *Ocimum* é importante fonte de muitos óleos essenciais, sendo usado na medicina popular de praticamente todos os continentes (ALBURQUERQUE & ANDRADE, 1998; SIMON et.al., 1999; SOBTI & PUSHANGADAN, 1982 e VIEIRA & SIMON, 2000).

A espécie *Ocimum basilicum* L., é uma espécie que apresenta propriedades aromáticas, condimentares e medicinais, por ser rica em óleos essenciais. É muito usada nas indústrias farmacêutica e de alimentos em geral. Algumas cultivares de *Ocimum basilicum* (manjericão) são vendidas no segmento das hortaliças. Os manjericões habitualmente encontrados nas feiras do Brasil apresentam-se variáveis em suas características morfológicas, dependendo da comunidade, tipo de feira ou do estabelecimento escolhido pelo consumidor (SANSON, 2006).

Encontram-se manjericões de folha pequena, média ou grande, bem como de folha lisa, crespada ou arroxeadada. As cultivares predominantemente roxas não são encontradas neste segmento do mercado por tratarem-se de plantas geralmente comercializadas como ornamentais, mas algumas das que são vendidas para molho são parcialmente arroxeadadas com folhas de tamanho pequeno a médio.

A maioria dos manjericões coletados em feiras produz pouca ou nenhuma semente, de forma que são propagados por estaquia. Alguns dificilmente florescem ou até mesmo não o fazem, dependendo da região. No entanto encontram-se entre eles alguns que produzem flores e sementes e alguns híbridos que, sendo inférteis, produzem apenas flores.

Os acessos de folhas pequenas geralmente estão ligadas à espécie *Ocimum basilicum* var. *minimum* (SILVA et al. 2003), embora alguns autores considerem a variedade como pertencendo à espécie *O. minimum*, e, quando roxas e lisas, pertencendo provavelmente ao taxon *O. minimum* var. *religiosum* (ALBUQUERQUE & ANDRADE, 1998).

As partidas que chegam às feiras e aos supermercados selecionadas para a finalidade hortícola despertam a atenção pela quantidade de morfotipos oferecida, o que corresponde a uma variabilidade na composição do óleo essencial. (SANSON, 2009).

Morales & Simon, (1996) citam o fato de que há muitos cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), com grande variação no tamanho e na cor da folha (de verde a roxo), na cor da flor (branca, vermelha, púrpura, roxa), no hábito de crescimento, forma, altura, época da floração e no aroma, tornando-a cada vez mais popular como tempero e ornamento. Definido como de polinização cruzada, no entanto, muitos cultivares entrecruzam e formam híbridos interespecíficos (MORALES & SIMON, 1996).

Santos (2007) realizou ensaios com o objetivo de avaliar o valor da transferência de caracteres entre cultivares de *O. basilicum* L., e descrever a variabilidade da cor púrpura e demais caracteres morfológicos em mudas de um tipo segregante de *O. basilicum* L., de interesse para o mercado de plantas ornamentais. O autor avaliou várias formas e verificou forte regressão da cor púrpura para a cor verde nas progênies.

Pushpangadan (1974) formulou uma classificação infragenérica do grupo *Ocimum*, o dividindo em dois grupos: *basilicum* e *sanctum*. O grupo (sub-grupo) *Basilicum* contém plantas herbáceas anuais ou perenes com sementes pretas, elipsóides e muito mucilaginosas e com um número básico de cromossomos de $n=12$. O grupo (sub-grupo) *Sanctum* é representado por arbustos perenes com sementes marrons, globosas e não ou muito pouco mucilaginosas com um número básico de cromossomos de $n=8$.

O manjericão cresce bem em cultivo protegido em residências, desde que se removam os primórdios florais, pois, por tratar-se de cultivo anual, após a produção de flores e sementes, ocorrerá a senescência. A poda sistemática resulta numa planta compacta e num suprimento constante de folhas para a cozinha. A adubação deve ser feita uma vez por mês e o solo deve ser mantido sempre úmido (PRENIS et al., 1990). O regime de luz adequado deve ser ½ sombra para retardar o florescimento. Entretanto a espécie adapta-se ao sol pleno (GARDÉ & GARDÉ, 1977; OSBORNE, 1974).

As melhores condições para o manjericão são os climas quentes ou amenos. Nos climas frios é cultivado em estufas. Desenvolve-se melhor nos solos fofos, bem drenados e ricos em matéria orgânica. (BUSTAMANTE 1996; HERTWIG, 1986; CORREA JR. et al., 1991).

Os manjericões são plantas de fácil cultivo a partir de sementes, que germinam em menos de uma semana em solo quente. Plantas jovens são facilmente transplantadas e devem ser plantadas em solo quente com o espaçamento de aproximadamente 30 cm. Devem ser semeados anualmente, mas em boas condições, as sementes germinam espontaneamente (PRENIS et al., 1990).

O plantio das sementes deve ser feito na primavera e a germinação ocorre em oito a dez dias. O repique é feito quando a planta tem de 5 a 6 folhas. O espaçamento é em geral de 20-30 cm em todos os sentidos. O transplante deve ser feito após três meses de plantio para um terreno ou vaso. O solo deve estar leve, bem adubado e irrigado (OSBORNE, 1974).

Hertwig (1986) sugere que a semente seja coberta com uma fina camada de solo ao ser plantada para otimização da germinação. As sementes, que são de cor negra, ao serem semeadas apresentam uma tonalidade azul, pois a umidade do solo atua sobre a mucilagem que a recobre. A germinação ocorre, em geral, de 10 a 14 dias após o plantio. O autor sugere um espaçamento médio entre linhas de plantio de 20 a 30 cm.

São relatados quatro problemas fitossanitários principais que ocorrem com maior frequência no cultivo dos manjericões. Bustamante (1996) aponta três problemas fitossanitários como sendo os mais importantes: o tombamento das sementeiras causado por fungos de solo, pulgões e formigas e o apodrecimento das raízes da planta adulta causado por excesso de água no solo. O autor recomenda o controle químico para os pulgões e formigas. Vários autores descreveram o parasitismo do nematóide *Meloidogyne javanica* sobre *Ocimum basilicum* registrando o decréscimo na biomassa fresca e na produção de sementes como sendo diretamente proporcional ao nível de inoculo no solo. (ALMEIDA & MATTOS, 1997) e (KARL et al., 1997)

A colheita comercial inicia-se quando a planta atinge o ponto máximo de desenvolvimento, quando uma boa cultura proporciona de 1 a 1,5 kg de ramos e folhas frescas por touceira, o corte é feito a 15 cm da superfície do solo, isso garantirá melhor rendimento na segunda colheita. Se as plantas não forem consumidas frescas devem ser deixadas ao sol por duas a três horas, para secagem e posterior produção de óleo essencial. Qualquer que seja o uso que se fizer da planta, é necessário evitar o amontoamento e o umedecimento, para impedir a fermentação dos galhos e folhas. Para fins medicinais, coleta-se quando a planta está em flor. Para fins culinários, em qualquer época. Há manjericões de várias fragrâncias tais como: de erva-doce, limão e estragão (BONAR, 1996; PAHLOW, 1996; BUSTAMANTE, 1996).

A tipologia de manjericões comercializados em feiras e supermercados do Brasil apresenta grande variação em todos os parâmetros morfológicos, permitindo o fácil reconhecimento dos acessos no mercado. Além disso, encontram-se vários quimiotipos (Sansón (2009)). A ocorrência de quimiotipos é frequente em plantas ricas em óleos voláteis. A composição não é influenciada apenas pelo genótipo, mas também pelas práticas culturais, idade da planta na época do corte, hora do corte, bem como os fatores ambientais, como temperatura, umidade relativa, irradiação e fotoperíodo (BRUNETON, 1991).

Vários estudos sobre a anatomia do gênero *Ocimum* foram realizados, contemplando diversas espécies. Martins et al. (2009) verificaram que tanto a intensidade como a qualidade espectral da luz influenciam na espessura e na área foliar, densidade estomática, densidades de tricomas tectores e glandulares de *Ocimum gratissimum* L.

Os quimiotipos eugenol, timol e geranial de *O. gratissimum* mostraram diferenças morfológicas e anatômicas, principalmente no pecíolo e na lâmina foliar. Os pecíolos e folhas de quimiotipos eugenol e timol foram mais semelhantes entre si que o tipo geraniol para pecíolos e folhas. No tipo geraniol as folhas foram mais desenvolvidas e apresentaram mais tricomas simples, quando comparado com os outros. Os quimiotipos geranial e timol apresentaram concavidades raras em comparação com o tipo eugenol onde as concavidades eram abundantes. Em geral os quimiotipos estudados apresentaram a mesma reação aos reagentes testados exceto para cloreto férrico III que reagiu positivo somente no pecíolo do tipo eugenol (VIANNA, 2009).

Zamfirache et al. (2008) estudaram dois genótipos de *Ocimum basilicum* L., e verificaram variações morfo-anatômica intra-específicas. Os dois genótipos distinguiram-se pelo tamanho e densidade da folhagem e pela fase de desenvolvimento da parte subterrânea. A presença de algumas características específicas do caule subterrâneo indica que os dois genótipos de manjeriço podem ser perenes, embora a espécie em geral seja considerada anual de acordo com a literatura científica. A estrutura do aparelho vegetativo no manjeriço dos dois genótipos diferiu na seção do caule no terço superior; no número e densidade de tricomas na superfície dos órgãos; na fase de lignificação do “stellum” na estrutura secundária; na ausência ou a presença tecidos secundários de proteção; no estágio de desenvolvimento do tecido vascular na nervura mediana do limbo foliar. O número de pelos secretores na unidade de superfície do órgão e o número de células que compõem o pelo glandular conferem propriedades aromáticas e medicinais. A pesquisa mostrou que o

número de pelos secretores do aparelho vegetativo em um dos genótipos foi maior em relação ao outro. Ambos os genótipos mostraram mais pelos secretores na lâmina e na ponta das hastes. A maioria dos pelos glandulares tetracelulares são encontrados apenas na lâmina foliar.

Os óleos voláteis são produzidos em estruturas secretoras especializadas que minimizam o risco de autotoxicidade e simultaneamente permitem a presença de altos níveis de componentes metabólicos em sítios onde seu papel defensivo ou atrativo pode ser vital. Tais estruturas secretoras são, na família Lamiaceae, os tricomas glandulares (FIGUEIREDO et al. 2008).

Tricomas são apêndices epidérmicos muito variáveis incluindo pelos glandulares e não-glandulares, escamas, papilas e pelos absorventes das raízes, podendo ocorrer em todas as partes das plantas e apesar de apresentarem variações, podem se mostrar uniformes em grupos de plantas, podendo ser utilizado como caracter de classificação taxonômica (METCALFE e CHALK, 1983).

Tricomas glandulares são formados por uma cabeça secretora uni ou pluricelular e um pedúnculo não secretor (FAHN, 1990).

Os nectários *O. basilicum* foram estudados com o uso de luz, fluorescência e microscopia eletrônica. A anatomia do nectário caracteriza-se por três grandes zonas: uma epiderme uniseriada, um tecido sub-epidérmico secretor e o tecido vascular. Eles são distribuídos difusamente e encontram-se no mesmo plano que as células epidérmicas. O tecido secretor é composto de pequenas células com paredes finas, núcleos relativamente grandes, citoplasma granular denso e pequenos vacúolos. A maioria das células do tecido nectarífero contém cristais de oxalato de cálcio de diferentes tamanhos. O diâmetro do nectário, o tamanho das células secretoras e a espessura da epiderme e cutícula aumentaram durante a ontogenia de nectário. O nectário é vascularizado exclusivamente pelo floema originado de feixes vasculares destinados ao gineceu (MAČUKANOVIĆ-JOCIĆ et al., 2007).

OBJETIVOS

Caracterizar e diferenciar, anatomicamente diferentes acessos de espécies do gênero *Ocimum* encontrados em feiras e supermercados do DF e BA, e avaliar o efeito da sazonalidade no rendimento e composição de óleo essencial de um acesso de *Ocimum basilicum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE U. P. & ANDRADE, L.H.C. Etnobotânica del genero *Ocimum* L. (Lamiaceae) en las comunidades afrobrasileñas. Anales del Jardin Botánico de Madrid 1998, 56: 1, 107-117.

ALMEIDA, A.C.L. & MATTOS, J.K.A. Efeitos da poda e do parasitismo de *Meloidogyne javanica* sobre o peso seco e o peso das sementes do basilicão. Anais do XX Congresso Brasileiro de Nematologia. Resumo n° 52. Gramado-RS, Abril de 1997. 95p.

BONAR, A. Herbs. A complete guide to their cultivation and use. 3ª Edição, *TIGER BOOKS INTERNATIONAL*, 1996, 144 p.

BRUNETON, J. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Zaragoza/ESP: Editorial Acribia, 1991. 594 p.

BUSTAMANTE, F.M.L. Plantas Medicinales y Aromaticas. Estudio, cultivo y procesado. Madrid. 3ª ed. Ediciones Mundi-Prensa. 1996. 365 p.

CORREA JR., C.; MING, L.C & SCHEFFER, M., Cultivo de plantas medicinais condimentares e aromáticas - Curitiba-PR, *EMATER-PR*, 1991, 151p.

GARDÉ, A. & GARDÉ, N. Culturas Hortícolas. 4ª ed. Coleção Técnica Agrária. *CLÁSSICA EDITORA*. 1977. 450 p.

HERTWIG, I. F., Plantas aromáticas e medicinais - Plantio, colheita, secagem e comercialização - São Paulo, Ícone-Editora, 1986, 441 p.

KARL A. C. SOUZA, R.M. & MATTOS, J.K.A. Patogenicidade de *Meloidogyne javanica* em quatro espécies de plantas medicinais. *Hortic. bras.*v.15 n.2: 118-121. nov.1997.

MARTINS, J. R., DE CASTRO, E. M., DA SILVA, A. P. O., OLIVEIRA, C., ALVES, E. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.1, p.82-87, jan-fev, 2009.

MATOS, F.J.A. Plantas medicinais brasileiras: Um desafio para nossos químicos orgânicos. *Desafio*. 1990; 3, 5 – 13.

MORALES, M.R. & SIMON, J. E. New basil selections with compact inflorescences for the ornamental market. In: J. Janick (ed.), *Progress in new crops*. ASHS Press, Arlington, VA. p. 543-546, 1996.

OSBORNE, R. How to grow herbs. 2nd. Ed. Menlo Park. USA. Sunset Books. 1974. 80 p.

PAHLOW, M., El gran libro de las plantas medicinales., 9ª. Edición. León-España. Editorial Everest S.A., 1996, 465 p.

PRENIS, J., DUDLEY, E.C. & CARTER, A.J. The Windowsill Herb Garden. Philadelphia Pennsylvania, *RUNNING PRESS*. 1990. 96 p.

PUSHPANGADAN, P. Studies on reproduction and hybridization of *Ocimum* species with view to improving their quality. Ph. D. thesis, Aligarh Muslim University, Aligarh, India, 1974.

SANSON, A. D. Morfologia, produção de biomassa e perfil de aromáticos de acessos de manjericão coletados em feiras e supermercados no Brasil. Dissertação de Mestrado. FAV- Universidade de Brasília, 2009, 40 p.

SANTOS E. F. Seleção de tipos de *Ocimum basilicum* L. de cor púrpura para o mercado de plantas ornamentais. Dissertação de Mestrado. FAV- Universidade de Brasília 2007. 58 p.

SIMON, J. E., MORALES, M. M. PHIPPEN, W., VIEIRA, R. F., ZAO, Z. Basil: a source of aroma compounds and a culinary and ornamental herb. In : Janick, J. - New Crops and New Uses : Biodiversity and Agricultural sustainability. ASHS press. pp. 499-505. 1999.

SILVA, M.G.V.; MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; Essential oils of *Ocimum basilicum* L., *O. basilicum* var *minimum* and *Ocimum basilicum* var *purpurascens* grown in Northeastern Brazil. *Flavour Frag. J.* 18, 13-14, 2003.

SOBTI, S.; PUSHPANGADAN, P. Studies in the genus *Ocimum*: cytogenetics, breeding and production of new strains of economic importance. In: Cultivation and Utilization of Aromatic Plants. Kapur: C. K. Atal and B. M. 1982. p. 457-472.

VIANNA, J. S. Caracterização anatômica, morfológica e química de quimiotipos de *Ocimum gratissimum* Lineu. Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, 78p, 2009.

VIEIRA, R. F., SIMON, J.E. Chemical characterization of basil (*Ocimum spp*) found in the market and used in tradicional medicine in Brazil. *Econ. Bot.*, v.54, p. 207-216, 2000.

ZAMFIRACHE, M. M. , TOMA, C., DUCA, M., DUNCA, S., OLTEANU, Z., STEFAN, N., GALES, S., PADURARIU, C. A comparative study regarding the morphology and anatomy of the vegetative apparatus in two *Ocimum basilicum* L. breeds. *Analele științifice ale Universității "Al. I. Cuza" Iași*, 2008.

CAPÍTULO I:

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DE ACESSOS DO GÊNERO
Ocimum ENCONTRADOS NO COMÉRCIO DE BRASÍLIA, DF E
SALVADOR, BA**

RESUMO

O manjeriço (*Ocimum* spp.) é uma planta herbácea da família Lamiaceae que apresenta propriedades aromáticas, condimentares e medicinais. Espécies de manjeriço são facilmente encontradas em mercados de todo Brasil e apresentam grande variabilidade morfoanatômica. Foram analisados anatomicamente cinco acessos do gênero *Ocimum*, encontrados no mercado de hortaliças de Brasília, DF e Salvador, BA, e suas características comparadas. O experimento foi conduzido na Estação Biológica de Brasília, UnB, onde os acessos foram multiplicados por estaquia e cultivados em estufa tipo *glasshouse*. Após o enraizamento as plantas foram transplantadas para o campo, onde permaneceram por seis meses até a coleta das amostras para análise anatômica. Foram coletadas folhas do terceiro nó a partir do ápice, pecíolos e folhas inteiras. Realizaram-se cortes transversais, paradérmicos e microscopia eletrônica de varredura das amostras. O objetivo do trabalho foi caracterizar anatomicamente os acessos do gênero *Ocimum*. Nas folhas, foram observadas diferenças entre os acessos estudados em relação ao tamanho de tricomas tectores e sua presença nas faces adaxial e abaxial. Os tricomas glandulares foram observados em todos os acessos e em ambas as faces. O formato do pecíolo também apresentou diferenças entre os acessos. Os estômatos foram classificados como diacíticos. Foram observados três tipos de tricomas, que estão presentes em todos os acessos: tricomas tectores unisseriados e pluricelulares; tricomas glandulares capitados, ao mesmo nível da epiderme (com uma célula basal, um pedúnculo e duas células apicais) e tricomas glandulares peltados, em depressões (com uma célula basal e de uma a quatro células apicais). Os resultados permitem concluir que a caracterização anatômica é uma ferramenta essencial para a diferenciação de acessos comerciais do gênero *Ocimum* encontrados em mercados.

Palavras chave: Manjeriço, anatomia, corte transversal, microscopia eletrônica de varredura, tricomas.

ABSTRACT

Basil (*Ocimum* spp) is a herbaceous plant of the Lamiaceae family that has aromatic, culinary and medicinal properties. Basil species are easily found in markets all over Brazil and show great morphoanatomical variability. Five accessions of the genus *Ocimum*, found in the vegetable market of Brasília, DF, and Salvador, BA, were anatomically analyzed, and their characteristics compared. The experiment was conducted at the Biological Experimental Station of the University of Brasilia, where the accessions were multiplied by cuttings and grown in a greenhouse. After rooting, plants were transplanted to the field, where they remained for six months until the collection of the samples for anatomical analysis. Leaves were collected from the third node from the apex, petioles and whole leaves. The samples analysis were done by cross-sections, paradermal and scanning electron microscopy. The aim of this study was to characterize anatomically the accessions of the genus *Ocimum*. In leaves, differences were observed among the accessions studied in relation to trichomes size and their presence in the adaxial and abaxial surfaces. The glandular trichomes were observed in all accessions and on both sides of the leaf. The shape of the petiole also showed differences between the accessions. The stomata were classified as diacytic. Three types of trichomes were observed, which were present in all accessions: multicellular uniseriate non glandular trichomes; glandular capitate trichomes at the same level of the epidermis (with a basal cell, a stalk and two apical cells) and a peltate glandular trichome found in depressions (with a basal and 1-4 apical cells). The results showed that the anatomical analysis is an essential tool for the characterization of commercial accessions found in markets.

Key words: Basil, anatomy, cross-section, scanning electron microscopy, trichomes.

INTRODUÇÃO

Entre as principais famílias botânicas representantes das plantas medicinais está a Lamiaceae (=Labiatae), pertencente à ordem Tubiflorae, uma das maiores de Angiospermas, na qual existe uma incerteza quanto ao número de gêneros e espécies. Para Hedge (1992), Lamiaceae é composta por 200 gêneros e cerca de 4.000 espécies, enquanto Hay & Waterman (1993), apresentam cerca de 200 gêneros e 2.000 a 5.000 espécies, Souza & Lorenzi (2005), se referem a 300 gêneros e 7.500 espécies e para Judd et al. (1999) é composta por cerca de 250 gêneros e aproximadamente 7.000 espécies. No National Genetic Resources Program/Germplasm Resources Information Network – ARS-GRIN estão catalogados 163 gêneros e 1.382 espécies.

As lamiáceas compreendem plantas herbáceas, podendo ter espécies arbustivas. Possuem folhas simples, opostas ou verticiladas, sempre muito aromáticas. O fruto é um tetraquênio. Suas flores são zigomorfas do tipo labiada, andróginas reunidas em cimeiras, racemos ou glomérulos; androceu oligostêmone com dois ou quatro estames e, neste caso, didínamos; gineceu de ovário súpero, bilocular.

A família Lamiaceae é representada por diversas plantas medicinais e condimentares, tais como alfazema (*Lavandula* sp.), cordão de frade (*Leonotis* sp.), macaé (*Leonurus* sp.), cordão-de-são-francisco (*Leucas* sp.), erva cidreira (*Melissa* sp.), hortelã (*Mentha* sp.), alfavaca (*Ocimum* sp.), orégano (*Origanum* sp.), boldo (*Plectranthus* sp.), alecrim (*Rosmarinus* sp.), sálvia (*Salvia* sp.) e tomilho (*Thymus* sp.) (Lorenzi & Matos, 2002).

De acordo com Paton et al. (1999), o gênero *Ocimum*, possui aproximadamente 64 espécies, que são usualmente encontradas em regiões tropicais e subtropicais e apresentam riqueza como medicinais, uso culinário e no controle de insetos. Apresentam ainda grande quantidade de óleos essenciais (GRAYER et al., 1996). Segundo Gupta (1994), o gênero possui 160 espécies

largamente distribuídas nas florestas tropicais da África e África do Sul. Além disso, na Arábia, Brasil e Índia, compreendendo grande diversidade de espécies. Salienta-se que entre a África Central e a Ocidental está o possível berço do *táxon*. A migração posterior a regiões geográficas distantes introduziu variações mediante cruzamentos naturais e euploidia. No entanto, a filogenia das espécies é pouco conhecida e as diferenças morfológicas entre muitos *taxa* são difíceis de definir devido à presença de formas intermediárias nas populações nativas tornando a nomenclatura complicada.

No gênero *Ocimum* é comum a ocorrência de hibridação e poliploidização e por isso tem-se criado confusão nas classificações taxonômicas dificultando o entendimento das relações genéticas entre as diversas *taxa*. Outro um fator que dificulta a taxonomia deste gênero, é o fato de ocorrerem muitas variedades botânicas, cultivares e tipos químicos dentro das espécies e que podem não diferenciar-se morfológicamente (SIMON, 1999).

Dentre as espécies do gênero *Ocimum* a mais comum é o *O. basilicum* e também a de maior importância econômica, por ser a espécie que apresenta óleo essencial de melhor qualidade e aroma (LORENZI & MATOS, 2002). A origem das espécies deste gênero provavelmente remonta a Ásia Ocidental, muito provavelmente a Índia, tendo sido trazida ao mundo novo por portugueses e espanhóis.

De acordo com Albuquerque & Andrade (1998) é a seguinte a descrição de *Ocimum basilicum*: planta epígea, fanerocotiledonar, do tipo “macaranga”. Raiz primária relativamente fina, hialina, com velum e pelos largos, hialinos e finos. Hipocótilo 0,4 – 0,6 cm de longitude entre 3 e 5 dias, grosso, succulento, de cor verde, com pelos curtos, hialinos e retos – Paracotilédones 2, de 2,2 – 2,8 x 1,4 – 2 mm entre os 3 e os 5 dias, longos ou ovais muito largos a medida que se desenvolvem, opostos, subsésseis, membranosos, verdes; ápice obtuso; base auriculada; pecíolo brevíssimo,

achatado. Erva 30 – 100 cm, anual ou perene, de base lenhosa, aromática.

Talos retos ou ascendentes, de seção quadrangular, sem pelos ou com pelos – com pelos invertidos concentrados sobre as caras opostas do talo, algumas vezes com pelos nos nós relativamente mais largos, eretos, dispersos - Ramos robustos ou delgados, abertos ou fechados, sublenhosos ou não, sem pelos ou pilosos, eretos ou ascendentes, que terminam algumas vezes na mesma altura.

Folhas 1,4 – 5,8 x 0,9 – 3,0 cm, em forma de ovo ou elípticas, inteiras ou sem bordos serrados na metade superior, agudas ou quase agudas, em forma de cunha, com glândulas, sem pelos ou com pelos invertidos sobre as bordas e os nervos inferiores; pecíolos 0,2 – 1,5 cm, com canais ou não, mais ou menos pilosos.

Inflorescência de 6- 30 cm de comprimento, mole, delgada robusta, ramificada ou não; verticilos separados entre 0,9 e 2 cm; eixo da inflorescência sem cicatrizes negras; brácteas 7 – 11 x 3,5 – 5 mm, persistentes ou não em forma de ovo, de agudas a pontudas, em forma de cunha a afilamento gradativo, peludas – com pelos relativamente mais largos nos bordos -; pedicelos 3 – 5 mm, eretos, achatados, ligeiramente curvados, com pelos curtos e retos. Cálice 3 – 5 mm na antese, ligeiramente reflexo, mais ou menos pilosos na face externa e com velum na interna, com um denso anel de pelos; lábio superior grande, redondo, decorrente cerca da base do tubo; lóbulos médios do lábio inferior lanceolados, de acuminados a cuspidados, lóbulos laterais deltóides, cuspidados; cálice frutífero de 5 – 7,5 mm, reflexos, de boca aberta, lábio superior cresce junto. Corola 5 – 11 mm, branca, branco-verde ou ligeiramente púrpura; tubo reto, infundibuliforme, mais largo que o cálice, sem pelo; lóbulos do lábio superior, redondos, ligeiramente sinuosos, pilosos no dorso; lábio inferior de quase longo a oblongo-elíptico, de bordo com crenas, piloso no

dorso. Aparecem fora entre 3 a 7 mm, os posteriores grandes, com apêndices sem pelos ou pilosos ao redor da base. Ovário sem pelo.

O tamanho dos frutos varia de 1,5 a 2,5 mm, têm formato ovalado, negros; pericarpo reticulado-foveolado (células em retículo ou em formato de favo), com grande quantidade de mucilagem e de aspecto lenhoso.

No Brasil dentro do grupo das alfavacas e manjericões, existe uma variação dos nomes populares. Por exemplo, em Belém do Pará, na feira do “Ver-o-peso”, “alfavaca” corresponde a *Ocimum micranthum*, enquanto “manjericão” a *O. americanum* e “manjericão miúdo” a *O. minimum*. Em Recife, na feira do Mercado São José, *O. americanum* é “manjerona”. Um *Ocimum basilicum* lá encontrado, de folhas um pouco maiores que o *O. minimum*, é denominado “manjericão médio” (MATTOS, 1996).

Barbosa (1984) e Bustamante (1996) mencionam duas espécies, *Ocimum basilicum* L. (“Manjericão Grande” ou “Alfavaca”) e *Ocimum minimum* L. (“Manjericão Pequeno”) e citam como pertencentes à primeira espécie as cultivares “Manjericão Grande Violeta”, “Grande de Folha de Alface” e “Grande Frisada”. A segunda espécie é mais anã, compacta e mais ramificada do que a primeira, tem folhas pequenas, verdes ou violetas.

No Brasil, o manjericão é cultivado principalmente por pequenos produtores rurais para a comercialização da planta como condimento (TEIXEIRA et al., 2002). Além do uso *in natura* é muito utilizado para a obtenção de óleo essencial, importante na indústria de perfumaria e na aromatização de alimentos e bebidas (MAROTTI et al., 1996). Na região do Mediterrâneo a erva é plantada nos beirais das janelas para repelir mosquitos e moscas (DUKE, 1991). Tem sido demonstradas também, atividades antimicrobianas, além de seu uso na conservação de grãos (MONTES-BELMONT e CARVAJAL, 1998).

Embora os manjericões apresentem uma grande diversidade de formas e cores, estes pertencem basicamente à espécie *O.*

basilicum, e alguns a espécie *O. africanum* (= *O. americanum*; = *O. canum*).

Segundo Gupta (1994), a palavra *basil* vem do mundo grego. *Basilica* significa real e o basilicão doce (*O. basilicum* var *glabrata*) era, na Grécia antiga, utilizado pela família real para dar sabor a pratos especiais. O gênero encerra um grande número de espécies e cultivares de utilidade comercial. As folhas são a parte econômica e têm numerosos tricomas glandulares que sintetizam e armazenam óleos voláteis.

Vieira et al. (2003) utilizaram marcadores moleculares para avaliar a diversidade genética de manjericão (*Ocimum* spp., Lamiaceae) de 37 acessos em nove espécies de *Ocimum*. As espécies domesticadas, *Ocimum minimum* L. (0.887), *O. basilicum* L. (0.769) e *O. × citriodorum* Vis. (0.711) tinham os mais altos índices de similaridade dentro da espécie, enquanto as não domesticadas, *O. americanum* L. (0.580), *O. gratissimum* L. (0.408) e *O. kilimandscharicum* Gurke (0.559) mostraram menor semelhança. Resultados do RAPD indicaram que *O. minimum* não deve ser considerado uma espécie distinta, mas sim uma variedade de *O. basilicum*. “Clusters” consistentes entre todos, menos um de *O. × citriodorum* spp., todos continham citral como o principal constituinte, foram identificadas usando análise *bootstrap*.

Em estudo sobre a biologia floral do manjericão, Pereira Neto & Barros (2000), utilizaram uma procedência que foi classificada como *Ocimum minimum* L. (Lamiaceae) tendo anotado os seguintes dados: morfologia floral, horário da antese, teste de polinização artificial (autopolinização, polinização automática, cruzada e apomixia) e acompanhamento da polinização natural. A floração esteve presente praticamente durante todo o ano e as flores apresentaram antese diurna. Não houve produção de frutos. Os autores relataram a ausência de sementes ao fim do ciclo floral. Os visitantes florais encontrados foram himenópteros e lepidópteros.

Alves (2002), trabalhando com o mesmo material genético de Pereira Neto & Barros (2000), re-classificou a espécie utilizada naquele referido trabalho como sendo um híbrido estéril (*Ocimum basilicum* x *O. americanum*). Uma característica importante que o levou a rever a classificação proposta por aqueles autores foi o fato conhecido de que as flores produzidas por *O. minimum* são férteis e as do híbrido não o foram.

O Manjeriço Híbrido Estéril (*O. basilicum* x *O. americanum*) tem seu uso na medicina popular como: diurético, carminativo, diaforético, estomacal e em afecções das vias respiratórias.

Camargo (1988) menciona *Ocimum cf. canum* Sims (*O. basilicum* x *O. americanum*) referindo-se a um exemplar coletado em Ibiúna-SP e depositado no herbário do Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo. O exemplar foi classificado como híbrido estéril, que segundo Pereira Neto & Barros (2000), já foi confundido com *Ocimum minimum*. Contudo, uma característica importante levou Alves (2002) a rever o proposto por aqueles autores, qual seja a fertilidade das flores produzidas por *O. minimum* enquanto as do manjeriço híbrido em apreço são estéreis. O acesso Híbrido, portanto, corresponde ao descrito por Alves (2002).

Um exemplar deste táxon foi incorporado à coleção de plantas medicinais da UnB. É uma planta facilmente encontrada em Brasília em muitos jardins e no comércio de mudas.

Em amostras do nordeste brasileiro encontraram-se formas nas quais não são claros os caracteres do indumento, o que dificultou sua determinação. Por outro lado, vegetativamente são muito semelhantes a *O. basilicum* L. Nessas formas, os pelos patentes do cálice não são tão conspícuos: somente alguns são encontrados e dispersos (ALBUQUERQUE & ANDRADE, 1998). A grande importância econômica da família Lamiaceae deve-se principalmente aos óleos essenciais produzidos nos pelos ou tricomas glandulares (FAHN, 1979).

As condições do solo, água, luz e de temperatura, exercem influência sobre as características estruturais das plantas. Muitas plantas submetidas a estresse de seca e calor adquirem mecanismos morfológicos e fisiológicos que possibilitaram sua sobrevivência. Esses mecanismos compreendem, na folha, principalmente, a redução do tamanho, capacidade de enrolamento, alta densidade de tricomas, estômatos profundos, acúmulo de mucilagem e outros metabólitos secundários e aumento da compactação do mesofilo (BOSABALIDIS & KOFIDIS, 2002).

Os estômatos são estruturas importantes para a produção vegetal, representando a porta de entrada e escoamento dos gases para a fotossíntese e de microrganismos. As diferentes espécies de plantas apresentam variações quanto ao número, frequência, tamanho, distribuição, forma e a mobilidade dos estômatos, o que interfere na capacidade fotossintética. Mesmo em uma única planta, as folhas variam relativamente quanto aos estômatos, dependendo de sua forma e posição no ramo. Além disso, o comportamento dos estômatos tem relação direta com as condições abióticas (LARCHER, 1986).

Os tricomas, tal como a cutícula e estômatos, também se manifestam de diferentes maneiras de acordo com as condições oferecidas às plantas, apresentando importância taxonômica. Os tricomas tectores representam grande valor comercial em espécies como algodão e paina, enquanto tricomas glandulares tem seu valor econômico nos óleos essenciais por eles produzidos que possuem interesse medicinal ou condimento (SILVA et al., 2005).

Tricomas glandulares são estruturas secretoras frequentemente presentes nas Lamiaceae, que secretam óleos essenciais, variando o número de células secretoras, o comprimento da célula peduncular, a quantidade de óleo secretado, a densidade e seu arranjo na epiderme (METCALFE & CHALK, 1983).

Simões e Spitzer (1999) e Figueiredo et al. (2008) citam os tricomas glandulares como estruturas secretoras especializadas na produção dos óleos essenciais na família Lamiaceae.

São encontrados basicamente dois tipos de tricomas glandulares nesta família: os peltados e os capitados. Estão dispostos na epiderme de ambas as faces, abaxial e adaxial, podendo ocorrer com diferentes densidades. Em geral, cada tipo de tricoma glandular apresenta uma célula basal, situada na epiderme, suportando um pedúnculo ou colo, com 1-3 células, e uma célula apical, quando são tricomas glandulares capitados, ou 4-10 células no ápice quando se trata de tricomas peltados (HAY & WATERMAN, 1993). Segundo Bosabalidis & Tsekos (1984), no gênero é comum a ocorrência de 4 células apicais no tricoma glandular.

Gonçalves et al., (2010) estudando caracterização e ontogênese de tricomas glandulares em *Ocimum selloi*, observou dois tipos de tricomas glandulares capitados e um tipo de peltado. Os tricomas peltados foram observados em depressões na epiderme e apresentaram quatro células secretoras apicais, uma célula peduncular e uma basal. A formação de tricomas glandulares ocorre inicialmente da expansão de uma célula protodérmica, que em seguida se divide periclinalmente, dando espaço a uma célula basal e uma apical. A célula apical se divide periclinalmente originando as células precursoras da cabeça secretora e do pedúnculo. Em seguida ocorre uma divisão anticlinal simétrica com a formação de duas células secretoras, que podem novamente se dividir anticlinalmente formando o tricoma com quatro células secretoras.

Werker et al. (1985) estudaram a estrutura anatômica dos tricomas secretores de algumas espécies de Lamiaceae e verificaram que os tricomas peltados e capitados diferem na morfologia, início e duração da atividade secretora, modo de secreção e tipo de material secretado.

OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar anatomicamente cinco acessos do gênero *Ocimum*, possibilitando a identificação dos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos deste segmento foram realizados na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, localizada no Parque Estação Biológica W5 Norte Final-Brasília/DF, a 15° 48' Latitude Sul e 47° 53' Longitude Oeste, a 1.000 metros de altitude e no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília.

Foram estudados cinco acessos de manjeriço encontrados em mercados e feiras de Brasília, DF e Salvador, BA, a saber: Manjeriço Colunar Roxo (acesso 1), Tradicional (acesso 2), Miúdo Verde (acesso 3), Híbrido (acesso 4) e Miúdo Roxo (acesso 5) (Figura 1.1). Todos foram multiplicados por estaquia e cultivados na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília em vasos com volume de 4 litros. O substrato utilizado foi a mistura EEB: (latossolo vermelho de cerrado textura média+ areia+composto orgânico+ vermiculita). Os itens da mistura apresentaram a seguinte proporção: 3:1:1:1. Para cada 40 litros da mistura foram incorporados 100 g da formulação 4-16-8 (N-P-K).

Após atingirem altura de aproximadamente 30 centímetros, as mudas foram transplantadas para o campo.

As plantas foram cultivadas no campo (Figura 1.2), em sulcos, no espaçamento de 80 x 50 cm, no período de setembro de 2010 a novembro de 2011. Para cada metro de sulco foram utilizadas 100 gramas de NPK na formulação 4-14-8 e 3 litros de composto orgânico.

A adubação de manutenção foi realizada colocando-se 50 gramas de NPK na formulação 10-10-10 por planta a cada três meses.

A amostragem foi feita mediante mapeamento das plantas e sua identificação, sendo classificados numericamente, por exemplo: acesso 1, indivíduo 1. As coletas foram realizadas após 6 meses de cultivo em campo. Para a análise, foram escolhidos aleatoriamente três indivíduos de cada acesso para a coleta do material vegetal. De

cada acesso, foram coletadas folhas do terceiro nó no sentido descendente, seus pecíolos e folhas inteiras. As amostras foram fixadas em FAA 50% e armazenadas em álcool 70° para a realização dos cortes anatômicos.

Os tipos de secções utilizadas nesta análise foram:

Corte transversal em pecíolos: para a obtenção dos cortes, foi utilizado o micrótomo de mesa. Os cortes, conforme realizados, foram transferidos para um recipiente contendo água destilada. A clarificação dos cortes foi feita utilizando solução de hipoclorito de sódio comercial 20% por aproximadamente vinte minutos. Após esta etapa, os cortes foram lavados com água destilada até a limpeza completa do hipoclorito, cerca de cinco lavagens. Em seguida, os cortes foram colocados em álcool 50°. O corante utilizado para evidenciar as estruturas celulares foi o azul de alcian + safranina (4:1), por aproximadamente 20 segundos. Após a coloração, os cortes foram submetidos a sucessivas lavagens em água destilada para a retirada do excesso de corante. Em seguida passaram por uma bateria de álcool: álcool 50° por um minuto, álcool comercial (92,8°) por um minuto, novamente em álcool comercial por três minutos, cinco minutos em álcool absoluto e por fim mais cinco minutos em álcool absoluto. Finalizada esta etapa, os cortes foram levados à capela, onde passaram pela sequência de acetato de butila na seguinte ordem: álcool absoluto + acetato (3:1), álcool absoluto+ acetato (1:1), álcool absoluto + acetato (1:3) e finalmente acetato de butila puro (FIGUEIREDO & GRACIANO, 2000).

As lâminas foram montadas utilizando resina sintética segundo metodologia de Paiva et al. (2006). Foram montadas três lâminas de cada indivíduo com pelo menos três cortes em cada uma delas. O estudo das estruturas foi realizado em microscópio óptico e as fotomicrografias foram obtidas com o fotomicroscópio Olympus CX 31 acoplado com a máquina fotográfica Olympus C - 7070.

Corte transversal na lâmina foliar: as secções transversais das regiões medianas das folhas foram realizadas com infiltração e inclusão dos materiais em historesina Leica®. Foi utilizado o material previamente fixado em FAA 50 e armazenado em álcool 70°. O processo de desidratação foi realizado colocando-se o material em etanol 70° por duas horas, em seguida no etanol 96° por mais duas horas e por fim em etanol 100° P.A por duas horas. Durante todas as etapas da desidratação o material foi submetido a sucessivos vácuos, no mínimo três por etapa, em bomba a vácuo TE-058 da TECNAL (Figura 1.3). As etapas de pré- infiltração, infiltração e inclusão em historesina Leica® foram feitas de acordo com as recomendações do fabricante. O material foi colocado em formas de silicone (Figura 1.4) e secas em estufa a 40°C por 24 horas. Após a retirada dos blocos das formas, estes foram afixados em cubos de madeira com adesivo instantâneo a base de cianoacrilato líquido.

Os cortes foram obtidos por meio de micrótomo rotativo Leica RM 2145, com navalha de aço (Figura 1.5).

Cada corte foi posicionado sobre lâminas cobertas com água destilada para se distenderem. As lâminas foram posicionadas em placa aquecedora Jung a 40°C, até sua completa secagem e aderência do corte nas mesmas (Figura 1.5). Após a secagem das lâminas, a coloração dos cortes foi feita por meio de imersão das lâminas em placa de petri contendo solução aquosa a 0,05% de azul de toluidina por aproximadamente 20 segundos. Após a completa secagem, as lâminas foram montadas em resina sintética de acordo com metodologia de Paiva et al. (2006).

Corte paradérmico (paralelo ao maior eixo do órgão): utilizado principalmente para o estudo da lâmina foliar, sendo paralelo à superfície. As folhas foram cortadas em pequenos quadrados, colocadas em recipiente contendo a solução de Franklin, com duas partes de peróxido de hidrogênio e uma parte de ácido acético para dissolver o mesofilo e retirar a epiderme da folha. O material foi retirado e lavado com água destilada por três

vezes, até completa retirada da solução de Franklin. Para corar as estruturas foi utilizado o corante Safranina por aproximadamente 5 horas. Decorrido este tempo foi feita a desidratação com álcool 50, 60, 70, 80 e 90%. A montagem das lâminas foi realizada com resina sintética de acordo com metodologia de Paiva et al. (2006).

Microscopia eletrônica de varredura: Foram retirados fragmentos de aproximadamente 0,5 centímetros da porção mediana das folhas, além de cortes transversais e de pecíolo de cada acesso que haviam sido previamente fixados em FAA 50 e armazenados em álcool 70°. O material foi então transferido para a solução tampão, cacodilato de sódio a 0,05 M, onde permaneceu por 5 minutos. Em seguida, o material foi pós fixado em tetróxido de ósmio a 1% por uma hora. Os cortes foram lavados em água destilada e passaram por uma bateria de desidratação em acetona, com as concentrações de 30, 50, 70, 90 e duas vezes em 100%, sendo que em cada etapa o material ficou por 20 minutos em cada solução. Posteriormente, as amostras foram submetidas ao ponto crítico de dessecação de CO₂ em equipamento BAL-TEC, CPD-030 e fixadas no suporte metálico com fita dupla face. Após este procedimento, o material foi levado para a metalização, onde foram recobertas com ouro metálico (10 nm), em aparelho BAL-TEC, SCD-050 (Figura 1.6). O material foliar preparado foi observado e eletromicrografado em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-7001F (Figura 1.7).



Figura 1.1 – Acessos de manjericão (*Ocimum* spp.) utilizados no experimento.



Figura 1.2 - Mudas plantadas no campo para coleta de folhas para análise anatômica.



Figuras 1.3 e 1.4 – Bomba a vácuo e forma de silicone com o material vegetal emblocado em historesina.



Figura 1.5- Micrótopo rotativo e placa aquecedora.

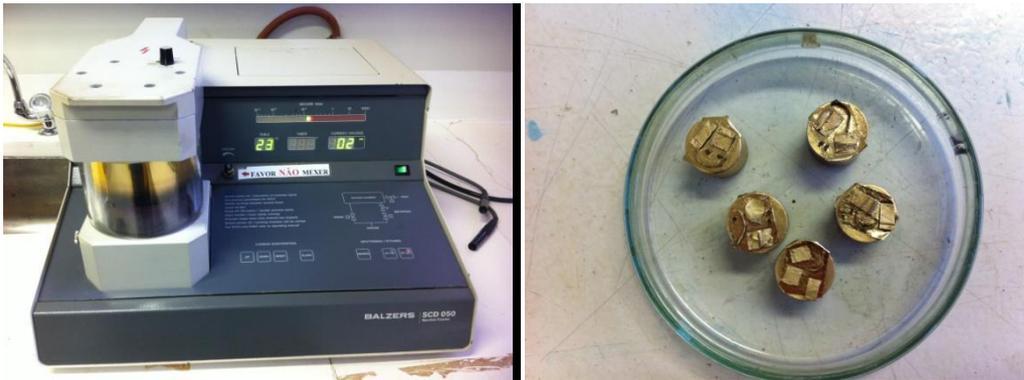


Figura 1.6 – Equipamento BALZERS SCD 050 para recobrimento com ouro metálico e material após metalização.



Figura 1.7 - Microscópio de Varredura Eletrônica JSM-7001F.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1-Lâmina foliar:

Todos os acessos estudados apresentaram formato da lâmina foliar linear com reentrâncias em ambas as faces (Figura 1.8). Entretanto, no acesso 2 (tradicional), a face abaxial apresentou reentrâncias maiores e em maior número. No acesso 4 (híbrido) foram observadas as maiores reentrâncias dentre os demais acessos estudados. A cutícula, em todos os acessos, é espessa. Os acessos 3 (miúdo verde) e 5 (miúdo roxo) possuem folhas mais estreitas em relação aos demais acessos estudados.

O formato linear da lâmina foliar com reentrâncias também foi observado por Vianna (2009) ao descrever a anatomia de *Ocimum gratissimum*. Analisando a anatomia de folhas de *Ocimum basilicum* L., Sam et al. (2002) observaram epiderme com ondulações pronunciadas na face abaxial e leves na adaxial corroborando com os dados observados.

A epiderme, quanto à estratificação, é unisseriada com células epidérmicas comuns circulares e tabulares.

As células epidérmicas comuns se mostram circulares em ambas as faces nos acessos 3, 4 e 5 próximas às nervuras. No acesso 2, as células epidérmicas da região da nervura também são circulares e apresentaram maior tamanho que as demais células epidérmicas do restante da lâmina foliar. No acesso 1 (colunar roxo) as células circulares estão presentes apenas na face abaxial e a parede celular é espessa.

A epiderme de *Ocimum gratissimum* foi descrita por Vianna (2009) como uniestratificada, Martins et al. (2009) estudando a mesma espécie encontrou a mesma característica. Sam et al. (2002) classificaram a epiderme como uniestratificada com células tabulares de paredes delgadas e cutícula fina. Satil et al. (2007) descrevendo *Hymenocrater bituminosus* (Lamiaceae) notaram, na lâmina foliar, epiderme unisseriada com células retangulares ou ovais. Fiuza et al. (2010) também observaram epiderme unisseriada

em *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley. Ao realizarem descrições de espécies da família Lamiaceae, Mauro et al.(2008), Martins (2002) e Sandes et al. (2012) da mesma forma encontraram epiderme uniestratificada. Toledo et al. (2004), também descreveram a epiderme de *Cunila microcephala* como uniestratificada e nas células epidérmicas foi observada superfície cuticular ornamentada por estrias em ambas as faces.

O mesofilo é dorsiventral, com uma camada mais compacta de parênquima paliçádico, com células alongadas ocupando de $\frac{1}{2}$ a $\frac{1}{3}$ do mesofilo e com cloroplastos. No acesso 4 foram observados cristais no parênquima paliçádico (Figura 1.10). O parênquima lacunoso é não compacto, possui de 3 a 5 camadas de células, ocupando de $\frac{2}{3}$ a $\frac{1}{2}$ do mesofilo e possui cloroplastos (Figura 1.10).

As folhas são anfiestomáticas e os estômatos, dispostos no mesmo nível das demais células ou levemente acima delas. São frequentes em ambas as faces e possuem ampla cavidade subestomática (Figura 1.10). Nos acessos 3 e 4 foram encontrados uma maior quantidade de estômatos. Em todos os acessos os estômatos foram classificados como diacíticos (Figuras 1.18 e 1.21).

Sam et al. (2002) descreveram o mesofilo como dorsiventral e observaram que a face abaxial possui maior quantidade de estômatos por mm^2 . O mesofilo dorsiventral também foi observado por Martins e Pastori (2004) em *Melissa officinalis* L. Martins et al. (2009) caracterizou a folha de alfavaca-cravo como anfihipoestomática e com mesofilo dorsiventral, com uma camada de células de parênquima paliçádico e de 4 a 6 camadas de células de parênquima lacunoso. Fiuza et al. (2010) observaram parênquima paliçádico unisseriado e parênquima lacunoso plurisseriado com células braciiformes no mesofilo classificado como dorsiventral para *Hyptidendron canun* (Lamiaceae). Mauro et al. (2008); Martins (2002), Sandes et al. (2012) e Toledo et al. (2004) também classificaram o mesofilo de outras espécies de

Lamiaceae como dorsiventral com uma camada de parênquima paliçádico com células alongadas e parênquima lacunoso não compacto com 3 a 5 camadas de células.

Satil et al. (2007) observaram estômatos diacíticos em ambas as faces e ao mesmo nível das demais células epidérmicas em *Hymenocrater bituminosus*. Toledo et al. (2004), também notaram estômatos diacíticos na epiderme de *Cunila microcephala* (Lamiaceae). Ao comparar duas espécies de *Ocimum basilicum*, Zamfirache et al. (2008) observaram lâmina foliar anfiestomática, com estômatos diacíticos. Folhas anfiestomáticas também foram descritas por Vianna (2009) e Sam et al. (2002) para espécies de *Ocimum*.

A presença de tricomas tectores foi evidenciada em grande quantidade em toda lâmina foliar no acesso 4. No acesso 3, embora presentes em toda lâmina foliar da face abaxial, a maior concentração de tricomas tectores foi observada nas regiões de nervuras. Nos acessos 1 e 2 foram observados apenas na face adaxial da nervura principal. No acesso 5 foram encontrados raros tricomas, apenas nas nervuras e bordos foliares. Todos os tricomas tectores das lâminas analisadas são unisseriados, pluricelulares e revestidos por cutícula com pequenas ornamentações (Figuras 1.11, 1.24, 1.25, 1.26). O acesso 4 apresentou tricomas tectores em maior quantidade e com maior tamanho celular e que nos demais acessos (Figura 1.20).

Embora apenas algumas espécies da família Lamiaceae tenham sido estudadas detalhadamente, dois tipos principais de tricomas glandulares são frequentemente descritos: os peltados e os capitados (ASCENSÃO et al. 1995).

Os tricomas glandulares se localizam, geralmente, em reentrâncias da epiderme. Foram encontrados dois tipos de tricomas glandulares: capitado e peltado. O tricoma capitado é composto por uma célula basal, pedúnculo e de uma a duas células secretoras apicais e o tricoma peltado possui uma célula basal e de uma a quatro células secretoras apicais. São frequentes em ambas

as faces nos acessos 3, 4 e 5 e em maior quantidade na face abaxial do acesso 1 e na adaxial do acesso 2 (Figura 1.12).

Zamfirache et al. (2008), descrevendo *Ocimum basilicum* encontraram tricomas tectores apenas na nervura principal e dois tipos de tricomas glandulares: o primeiro localizado em pequenas depressões na epiderme superior com glândula bicelular e o segundo localizado em grandes depressões na epiderme inferior com glândula de 4 células. Satil et al. (2007) observaram tricomas tectores com ornamentações em *Hymenocrater bituminosus*. Martins et al. (2009) classificaram os tricomas encontrados em *Ocimum gratissimum* como tricomas tectores pluricelulares, glandulares peltados, encontrados em depressões, e capitados em ambas as faces. Tricomas glandulares em ambas as faces e tricomas tectores pluricelulares, unisseriados, com duas células basais e 1 célula apical pontiaguda foram observados por Martins e Pastori (2004) em *Melissa officinalis*. Tricomas tectores e glandulares também foram descritos por Fiuza et al. (2010) em *Hyptidendron canum*. Na descrição de *Ocimum gratissimum* Costa et al. (2009) apontaram que os tricomas tectores e glandulares foram encontrados especialmente sobre as regiões de nervura.

Vianna (2009) encontrou tricomas tectores unisseriados e pontiagudos e tricomas glandulares de dois tipos: ao mesmo nível das demais células epidérmicas (com uma célula basal, pedúnculo e uma célula apical) e em reentrâncias (com duas células basais, pedúnculo e duas apicais). Os quimiotipos de *Ocimum* estudados apresentaram diferenças em relação à quantidade e tamanho dos tricomas.

Toledo et al. (2004) descreveram os tricomas glandulares capitados como estruturas secretoras de óleo essencial em *C. microcephala*.

Sam et al. (2002) analisando *O. basilicum* encontraram as glândulas secretoras em diferentes estágios de crescimento confirmando que não surgem simultaneamente, mas se formam à medida que a planta cresce e podem variar de acordo com as

condições em que as plantas se desenvolvem. Observou também uma maior quantidade de glândulas secretoras de óleo na face abaxial.

Tricomas tectores unisseriados pluricelulares e tricomas glandulares (com número de células secretoras variando de 1 a 12) capitados e peltados foram observados por Mauro et al. (2008); Martins, (2002) e Sandes et al. (2012) em diferentes espécies de Lamiaceae.

Serrato-Valenti et al. (1997) ao estudarem os tricomas glandulares de *Salvia áurea* L. observaram tricomas peltados que apresentavam, inicialmente, 1 célula basal, 1 pedicelo curto e ampla cabeça contendo de 6 a 8 células secretoras. Após o amadurecimento, as células apicais apresentaram entre 2 a 8 células apicais. Foram observados ainda, 2 tipos de tricomas glandulares capitados. Os do tipo I, muito semelhantes aos observados no presente trabalho apresentaram 1 célula basal, 1 pedúnculo curto e uma cabeça bicelular e os do tipo II possuíam 1 célula basal, entre 1 a 4 células cônicas pedunculares e célula apical unicelular globosa.

Werker et al. (1993) ao investigarem os tipos de tricomas e seu padrão de distribuição em folhas de *Ocimum basilicum* em diferentes estágios de crescimento, observaram tricomas glandulares e não glandulares em ambas as faces das folhas. Os tricomas não glandulares foram descritos como unisseriados, pontiagudos e retilíneos, com 1 a 5 células de parede espessa. Os tricomas glandulares encontrados foram tricomas capitados, compostos por uma célula basal, pedúnculo e ápice com uma célula alongada a oval ou duas células amplas, e tricomas peltados que apresentaram distribuição similar ao capitado na base e pedúnculo, mas possuem 4 células apicais.

Os tricomas glandulares também são descritos por Metcalfe & Chalk (1988) como estruturas secretoras de óleo essencial frequentemente encontrados em espécies da família Lamiaceae.

Gang et al. (2001) ao estudarem os locais de armazenamento e biossíntese de fenilpropanóides em *Ocimum basilicum*, concluíram que a maior parte do óleo essencial é encontrado na superfície foliar. Embora os tricomas capitados sejam mais numerosos que os peltados, eles são menores e não armazenam fenilpropanóides, que são constituintes do óleo essencial. Os tricomas glandulares peltados são, possivelmente, os únicos locais de biossíntese e armazenamento de fenilpropanóides voláteis, dedicando a maior parte de sua atividade metabólica para a síntese dos mesmos.

Os mesmos tipos de tricomas, tectores e glandulares, também foram observados por Faria (2008) ao estudar duas espécies do gênero *Hypenia*.

Segundo Wagner et al. (2004) os tricomas podem ser formados em vários estágios de desenvolvimento das plantas e desempenham diversas funções na planta como absorção de água, dispersão de sementes, proteção contra abrasão (WERKER, 2000), regulação térmica, imobilização de insetos, entre outros. Os tricomas glandulares, assim como os tectores, podem influenciar as funções da planta em virtude de suas propriedades físicas como tamanho e densidade, mas adicionalmente podem afetar resistência a pragas e doenças baseado nos fitoquímicos que eles secretam.

Ascensão et al. (1995) ao estudarem os tricomas glandulares de *Leonotis leonurus* (Lamiaceae) descreveram tricomas peltados e capitados que foram encontrados em ambas as faces foliares, mas em maior quantidade na face abaxial. Nas regiões de nervura, foram encontrados escassos tricomas glandulares, mas tricomas tectores em abundância.

Os tricomas capitados se originam de uma célula da protoderme que através de uma serie de divisões periclinais forma uma fileira unisseriada de 3 a 5 células. A célula inferior corresponde a célula basal, a superior originará as células apicais e as intermediarias formam o pedúnculo. A célula superior inicia um aumento para formar uma célula globosa que após 2 sucessivas

divisões anticlinais criam a cabeça glandular composta por 4 células apicais (BOSABALIDIS e TSEKOS, 1982).

As secreções eliminadas pelas células glandulares dos tricomas acumulam-se primeiramente entre a parede celular e a cutícula. Posteriormente a cutícula se rompe e a secreção é eliminada (ESAU, 1960).

Segundo Werker et al. (1985), os tricomas glandulares capitados tem secreção formada quando as folhas ainda são jovens enquanto nos peltados a sua secreção é formada mais tardiamente no estágio de desenvolvimento da planta, quando a secreção das glândulas de tricomas glandulares capitados praticamente cessou. A secreção de tricomas peltados fica aprisionada na cavidade subcuticular, a menos que fatores externos como elevadas temperaturas, baixa umidade do ar ou ataques de animais causem uma ruptura na cutícula. Tricomas capitados formam pequenos espaços subcuticulares e a liberação da secreção ocorre provavelmente por microporos subcuticulares.

Outros autores como Metcalfe & Chalk (1988), Fahn (1990) e Buvat (1989) descrevem os tricomas glandulares como estruturas típicas secretoras de óleos essenciais na família Lamiaceae.

O sistema vascular da lâmina foliar, envolto por uma bainha parenquimática com cloroplastos, é do tipo colateral e composto por xilema e floema primários (Figura 1.13).

A nervura principal apresenta formato biconvexo (Figura 1.14). O formato da nervura do acesso 3 pode variar de biconvexo a linear convexo.

O câmbio vascular está presente denotando início de crescimento secundário. Os feixes vasculares são colaterais e estão dispostos em semicírculo aberto nos acessos 2, 3 e 4, semicírculo fechado no acesso 1 e no acesso 5 possui formato mais linear. Nos acessos 3 e 5, o sistema vascular é reduzido, enquanto nos demais acessos é bem desenvolvido. A cutícula apresenta ornamentação em ambas as faces (Figura 1.14).

O parênquima clorofiliano da nervura principal é composto por células circulares. Nos acessos 2, 3, 4 e 5 são circulares em ambas as faces, apresentando maior diâmetro na face adaxial. No acesso 1 as células são circulares apenas na face abaxial (Figura 1.14).

O colênquima é composto por uma a duas camadas de células isodiamétricas na face abaxial. Na face adaxial os acessos 1 e 2 apresentam número de camadas variando de três a quatro e nos acessos 3, 4 e 5 de uma a duas camadas (Figura 1.14).

O xilema é envolto por tecido parenquimático e apresenta número variável de elementos de metaxilema, mas em geral, foram encontrados de 2 a 4. O floema apresenta fibras extraxilemáticas de paredes delgadas (Figura 1.14).

O bordo foliar de todos os acessos estudados apresentou formato arredondado e as mesmas características do restante da lâmina foliar (Figura 1.9).

A nervura principal foi descrita como visivelmente proeminente na face abaxial e com feixe vascular único envolto por parênquima fundamental por Zamfirache et al. (2008) em *Ocimum basilicum*. Toledo et al. (2004), descrevendo *Cunila microcephala* observaram nervura principal com cutícula estriada, dois estratos de colênquima e feixe vascular colateral. Vianna (2009) descreve o sistema vascular como colateral, em forma de arco fechado em *Ocimum gratissimum*. O bordo foliar mostrou, assim como no presente trabalho, a mesma organização estrutural da lâmina foliar. Martins e Pastori (2004) observaram nervura central delimitada por espessa camada de colênquima com feixe vascular colateral em *M. officinalis*.

2-Pecíolo:

O pecíolo apresenta diferentes formatos. No acesso 1 é semicircular, convexo na face abaxial e mais reto na adaxial, com laterais arredondadas. Nos acessos 2 e 4 são semicirculares, apresentam a parte mais arredondada na face abaxial, levemente

côncavo na adaxial e com as laterais arredondadas. Já nos acessos 3 e 5 o pecíolo tem formato praticamente circular, sendo ligeiramente mais lineares na face adaxial (Figura 1.15).

Todos os acessos apresentaram cutícula com ornamentação. A epiderme é unisseriada, com células epidérmicas comuns, estômatos e tricomas. Estão presentes tricomas tectores e dois tipos de tricomas glandulares, os capitados (Figura 1.23) e os peltados. Os tricomas tectores são mais frequentes na face adaxial do pecíolo, assim como na nervura principal da lâmina foliar (Figura 1.16).

Zamfirache et al. (2008) observaram no pecíolo de duas espécies de *O. basilicum*, cutícula delgada, presença de poucos estômatos e dois tipos de tricomas, tectores unisseriados e pluricelulares presentes em toda superfície e tricomas glandulares com pedicelo unicelular e glândula uni ou bicelular.

Vianna (2009) ao descrever o pecíolo de *Ocimum gratissimum*, observou contorno semi-cilíndrico, epiderme uniestratificada, tricomas glandulares e tectores unisseriados e pluricelulares. Sistema vascular com arranjo colateral em forma de arco aberto interrompido.

Costa et al. (2009), observou em pecíolo de *Ocimum gratissimum* duas leves projeções nas extremidades de seus cortes, que também apresentaram feixe vascular reduzido e com formato de arco aberto.

Ao estudarem o pecíolo de outra espécie da família Lamiaceae, Fiuza et al. (2010) o descreveram com contorno côncavo na face adaxial e convexo na abaxial, epiderme unisseriada com tricomas tectores ramificados e tricomas glandulares em ambas as faces. Sistema vascular em forma de ferradura constituído por feixes colaterais, evidenciando calota esclerenquimática externamente ao floema.

Mauro et al. (2009) ao descreverem duas espécies do gênero *Plectranthus* (Lamiaceae), notaram no pecíolo de formato côncavo/convexa epiderme unisseriada com cutícula espessa, feixe vascular

colateral fechado com 2 feixes acessórios e abundantes tricomas tectores unisseriados pluricelulares.

Satil et al. (2007) na Turquia observaram em pecíolos de *H. bituminosus*, também da família Lamiaceae epiderme unisseriada com cutícula espessa e tricomas tectores unisseriados, com 2 a 3 células, e glandulares, com uma célula basal e uma apical.

O córtex é composto por 1 a 3 camadas de colênquima e 3 a 6 camadas de células de parênquima de preenchimento de formato isodiamétrico com meatos e sem conteúdo celular observado. A bainha amilífera é composta por 1 camada de células parenquimáticas (Figura 1.15).

O sistema vascular é colateral e encontra-se em início de crescimento secundário. É disposto em semicírculo nos acessos 1, 3 e 4, em semicírculo fechado no acesso 2 e mais retilíneos no acesso 5 (Figura 1.15). É semelhante à nervura principal da lâmina foliar e apresenta feixes acessórios (Figura 1.17), variando de 1 a 2 e que são localizados próximos à face adaxial.

O floema primário é composto por elementos de tubo crivado e células companheiras, sem conteúdo celular observado. O xilema primário é composto por 2 a 4 camadas de metaxilema e 1 camada de protoxilema.

3-Cortes Paradérmicos:

Os estômatos das espécies estudadas são do tipo diacítico, onde as células subsidiárias tem paredes em comum, perpendiculares ao maior eixo das células-guarda (Figura 1.18). As células epidérmicas apresentam paredes anticlinais sinuosas.

Foram observados tricomas glandulares em ambas as faces e tectores mais presentes na face adaxial.

4-Microscopia eletrônica de varredura:

No acesso 1 foram observados tricomas tectores apenas nas nervuras da face adaxial. No acesso 2 foram observados tricomas tectores em ambas as faces apenas nas nervuras, sendo que na face

adaxial estão presentes em maior quantidade que na face abaxial. No acesso 3, a presença de tricomas tectores foi notada em toda a lâmina foliar na face abaxial, já na face adaxial estão presentes apenas na nervura. No acesso 4 os tricomas tectores estão localizados em toda lâmina foliar e na nervura em ambas as faces e no acesso 5 apenas nas nervuras em ambas as faces. Todos os tricomas tectores se apresentaram unisseriados e pluricelulares.

Os tricomas glandulares estão presentes em ambas as faces ao longo de toda lâmina foliar em todos os acessos. Também são encontrados nas nervuras, com exceção do acesso 4 que possui os tricomas glandulares inseridos nas laterais da nervura principal. Foram observados dois tipos de tricomas glandulares: um maior, peltado, localizado em grandes depressões e apresentando 1 a 4 células apicais e outro menor, capitado e composto por 2 células apicais e pedicelo (Figuras 1.19, 1.20, 1.22, 1.24, 1.25).

Todos os tricomas tectores observados apresentam ornamentação da cutícula (Figura 1.26). Os estômatos apresentam cristas, que são pequenas projeções cuticulares salientes.

Foi observado que no acesso 4 os tricomas, glandulares e tectores, estão presentes em maior densidade que nos demais acessos estudados. No acesso 3, os tricomas tectores estão presentes em maior quantidade na face adaxial.

Notou-se também uma maior deposição de cera na epiderme dos acessos 4 e 5 em relação aos demais estudados (Figura 1.21). A maior deposição de cera na epiderme pode ser uma proteção contra pragas e efeitos adversos de clima, assim como os tricomas. Werker (2000) evidencia que tricomas tectores densamente distribuídos ao longo da lâmina foliar podem servir como barreira mecânica contra fatores ambientais e climáticos extremos como excesso de radiação solar.

As principais diferenças entre os acessos estudados que permitem a diferenciação dos mesmos anatomicamente estão evidenciadas na tabela 1.1.

Tabela 1.1: Principais diferenças observadas entre os 5 acessos de *Ocimum* estudados.

	Acesso 1	Acesso 2	Acesso 3	Acesso 4	Acesso 5
T. tectores lâmina foliar- abaxial	Ausentes	Ausentes	Presentes	Presentes	Ausentes
T. tectores lâmina foliar- adaxial	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Presentes	Ausentes
T. tectores nervura principal- abaxial	Ausentes	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes
T. tectores nervura principal- adaxial	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes
Formato do pecíolo- face abaxial	Convexo	Arredondado	Circular	Arredondado	Circular
Formato do pecíolo- face adaxial	Mais linear	Leve concavidade	Ligeiramente mais linear	Leve concavidade	Ligeiramente mais linear

CONCLUSÃO

A análise anatômica fornece subsídios que possibilitam a identificação e caracterização dos acessos estudados. As diferenças observadas no formato do pecíolo, ausência ou presença de tricomas tectores nas faces abaxial e adaxial, tamanho das reentrâncias na epiderme da lâmina foliar, tamanho e formato das células epidérmicas comuns e deposição de cera na epiderme permitem a diferenciação dos acessos analisados no estudo.

REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALBUQUERQUE U. P.& ANDRADE, L.H.C. Etnobotânica del genero *Ocimum* L. (Lamiaceae) en las comunidades afrobrasileñas. Anales del Jardin Botanico de Madrid. 56: 1, 107-117, 1998.

ALVES, I. P. Estudo morfológico e fenológico do basilicão híbrido (*O.basilicum* x *O. canum*). Monografia de Graduação. FAV-Universidade de Brasília. 22 p. 2002.

ASCENSÃO, L., MARQUES, N., PAIS, M.S. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). Annals of Botany, London, v.75, p.619-626. 1995.

DE ALENCAR FIGUEIREDO, L. F.; GRACIANO, D. Confecção de lâminas permanentes de plantas. Brasília: Universa, 2000 (Texto Universitário).

BARBOSA, W. Q. A horta. Tratado das hortaliças e outras plantas hortenses. Ed J. Maria Loureiro, 1984.

BOSABALIDIS, A.M. & KOFIDIS, G. 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive Cultivars. Plant Science 163: 375-379.

BOSABALIDIS, A. M., TSEKOS, I. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. Planta 156: 49-504, 1982.

BUSTAMANTE, F.M.L. Plantas Medicinales y Aromaticas. Estudio, cultivo y procesado. Madrid. 3ª ed. Ediciones Mundi-Prensa. 1996. 365 p.

BUVAT, R. Ontogeny, cell differentiation and structure of vascular plants. New York: Springer Verlag, 1989. 581 p.

CAMARGO, M.T.L. Plantas medicinais e de rituais afrobrasileiros. São Paulo: ALMED. 97 p., 1988.

COSTA, V. B. S., CORRÊA, M. D., CHAGAS, M. G. S., PIMENTEL, R. M. M. Anatomia da folha e do caule de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) sob condições naturais. IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (JEPEX), UFRPE, 2009.

DUKE, J.A. Handbook of medicinal herbs. Boca Raton, 1991, p. 332-334.

ESAU, K. Anatomia das plantas com sementes. Editora Edgard Blucher Ltda. 293 p. traducao: Berta Lange de Morretes, 1974.

FAHN, A. Secretory tissues in plants. London: Academic Press, 1979, pg.158-222.

FAHN, A., Plant anatomy, 4th edn. Oxford: Pergamon Press, 1990.

FARIA, M. T., Morfologia, anatomia, histoquímica e fitoquímica de espécies do gênero *Hypenia* (Mart . ex Benth.) R. Harley (Lamiaceae) ocorrentes no Cerrado de Goiás. Revista de Biologia Neotropical. 5(1): 71-72, 2008.

- FIGUEIREDO, A. C., BARROSO, J. G., PEDRO, L. G., SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragrance. J.* 2008; 23: 213–226.
- FIUZA, T. S., RTEZENDE, M. H., SABÓIA-MORAIS, S. M. T., TRESVENZOL, L. M. F., FERREIRA, H. D., PAULA, J. R. Estudo das folhas e caule de *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.)Harley, Lamiaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 20(2): 192-200, Abr./Mai. 2010.
- GANG, D.R., WANG, J., DUDAREVA, N., NAM, K. H., SIMON, J. E., LEWINSOHN, E., PICHERSKY, E. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. *Plant Physiology* 125: 539-555, 2001.
- GRAYER, R.J.; KITE, G.C.; GOLDSTONE, F.J.; BRYAN PATON. A and PUTIEVSKYE. Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, v.4, 1996, pg. 1033-1039.
- GONÇALVES, L. A., AZEVEDO, A. A., OTONI, W. C., Characterization and Ontogeny of the glandular trichomes of *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae), *Acta bot. bras.* 24(4): 909-915. 2010.
- GUPTA R. Basil (*Ocimum* sp) Newsletter – G-15 Gene Banks for Medical & Aromatic Plants. June-December, 5 / 6, 1994, pg. 1-3.
- HAY R.K .M.; WATERMAN, P.G (1993) Volatile Oil Crops: their Biology, Biochemistry and Production. Longman Scientific & Technical. 185p., 1993.
- HEDGE, I. C. A global survey of the biography of the Labiatae. In: HARLEY, R. M. & REYNOLDS, T. *Advances in Labiatae Science*. Kew, Richmond, Surrey, UK: The Royal Botanic Gardens.p. 7-17, 1992.
- JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S., KELLOG, E. A. & STEVENS, P. F. *Plant Systematics: A phylogenetic approach*. Sinaur Associates, Sunderland, 1999.
- LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. São Paulo, EPU, 1986.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. *Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 512p. 2002.
- MAROTTI, M, PICCAGLIA, R & GIOVANELLI, E. Differences in Essential Oil Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian Cultivars Related to Morphological Characteristics *J. Agric. Food Chem.*, 1996, 44 (12), pp 3926–3929.
- MARTINS, G., BERNADETE, M., Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata X suaveolens* (Lamiaceae). *Revista de Ciências Agronômicas*, v. 61, n. 3, p. 205-218, 2002.

- 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). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.6, n.2, p.77-82, 2004.
- MARTINS, J. R., DE CASTRO, E. M., DA SILVA, A. P. O., OLIVEIRA, C., ALVES, E. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. Ciência Rural, Santa Maria, v.39, n.1, p.82-87, jan-fev, 2009.
- MATTOS, J. K A., Plantas Mediciniais: Aspectos agronômicos - Brasília-DF, Edição do autor, 1996, 50 p.
- MAURO, C., SILVA, C. P., MISSIMA, J., OHNUKI, T., RINALDI, R. B., FROTA, M. Estudo anatômico comparado de órgãos vegetativos de boldo miúdo, *Plectranthus ornatus* Codd. e malvariço, *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. – Lamiaceae. Brazilian Journal of Pharmacognosy 18(4): 608-613, Out./Dez. 2008.
- METCALFE, C. R., CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons. 2.ed. Oxford: Clarendon Press, 1983.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press, v.1, 276p., 1988.
- MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. Journal of Food Protection, V.61, N.5, P.616-619, 1998.
- MORALES, M.R. AND SIMON, J. E. New basil selections with compact inflorescences for the ornamental market. p. 543-546. 1996. In: J. Janick (ed.), Progress in new crops. ASHS Press, Arlington, VA.
- RYDING, O. (1994). Notes on the Sweet Basil and its wild relatives (Lamiaceae) *Economic Botany* 48(1) p. 65-67. 1994.
- PATON A., HARLEY, R.M.. HARLEY, M. M. *Ocimum*: an overview of relationships and classification. In: HOLM, Y.; HILTUNEN, R. *Ocimum* Medicinal and aromatic plants: industrial profiles. (Series Ed. Hardman), Amsterdam: Harwood Academic, p. 1-389. 1999.
- PEREIRA NETO, J. V. & BARROS, M. A. G. Biologia reprodutiva e polinização de *Ocimum minimum* L. (Labiatae). Anais do 51º Congresso Nacional de Botânica: pag 187. Brasília-DF, 23 A 29/7/2000.
- SAM, O. , DE LA LUZ, M., BARROSO, L. Caracterización anatómica de las hojas de La albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L.) Cultivos Tropicales, vol. 23, núm. 2, pp. 39-42 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba, 2002.

- SANDES S. S., BLANK A. F., BOTÂNICO M. P., BLANK M. F. A., VASCONCELOS J. N. C., MENDONÇA S. A. D. Estruturas secretoras foliares em patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.]. *Scientia Plena* v.8, n.5 059902, 2012.
- SATIL, F., UNAL, M., ERSIN, H. Comparative morphological and anatomical studies of *Hymenocrater bituminosus* Fisch. & C. A. Mey. (Lamiaceae) in Turkey. *Turk J Bot* 31, 269-275, 2007.
- SERRATO-VALENTI, G.; BISIO, A.; CORNARA, L.; CIARALLO, G. Structural and histochemical investigation of the glandular Trichomes of *Salvia aurea* L. leaves and chemical analysis of the essential ort. *Annals of Botany*, London, v.79, p.329-336, 1997.
- SILVA, L. M., ALQUINI, Y., CAVALLET, V. J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. *Acta bot. bras.* 19(1): 183-194. 2005.
- SIMÕES CMO; SPITZER V. 1999. Óleos voláteis. In: SIMÕES CMO. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre: Ed. Universidade-UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC.p. 387-415.
- SIMON, J. E., MORALES, M. R., PHIPPEN, W.B., VIEIRA, R. F., HAO, Z. Basil: A source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. In: JANICK, J. *New crops and new uses: biodiversity and agricultural sustainability*. Alexandria: ASHS Press, 1999. p. 12-159.
- SOUZA, V.C. & LORENZI, H. *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em AGP II*. Nova Odessa/SP: Instituto Plantarum, 640 p. 2005.
- TEIXEIRA, J.P.F.; MARQUES, M.O.M.; FURLANI, P.R.; FACANALLI, R. Essential oil contents in two cultivars of basil cultivated on NFT-hydroponics. IN: *Proceedings of the First Latin-American Symposium on the Production of Medicinal, Aromatic and Condiments Plants*, *Acta Horticulturae*, v.569, p.203-208, 2002.
- TOLEDO, M. G. T., ALQUINI, Y., NAKASHIMA, T. Caracterização anatômica das folhas de *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* vol. 40, n. 4, out./dez., 2004.
- VIANNA, J. S. Caracterização anatômica, morfológica e química de quimiotipos de *Ocimum gratissimum* Lineu. Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, 78p, 2009.
- VIEIRA, R.F., GOLDSBROUGH, P., SIMON, J.E. Genetic diversity of basil (*Ocimum* spp.) based on RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 2003, 128: 1, p. 94-99.
- WAGNER, G. J.; WANG, E.; SHEPHERD, R. W. New approaches for studying and exploiting na old protuberance, the plant trichome. *Annals of Botany*. v. 93, p. 3-11, 2004.

WERKER, E., PUTIEVSKY, E., RAVID, U. The Essential oils and glandular hair in different chemotypes of *Origanum vulgari* L. Annals of Botany. London, v.55, p793-801, 1985.

WERKER, E., PUTIEVSKY, E., RAVID, U. Glandular hairs and essential oil developing leaves of *Origanum basilicum* (Lamiaceae). Annals of Botany, London, v.71, p.43-50, 1993.

WERKER, E. Trichome diversity and development. Advances in Botanical Research 31: 1-35, 2000.

ZAMFIRACHE, M. M. , TOMA, C., DUCA, M., DUNCA, S., OLTEANU, Z., STEFAN, N., GALES, S., PADURARIU, C. A comparative study regarding the morphology and anatomy of the vegetative apparatus in two *Ocimum basilicum* L. breeds. Analele științifice ale Universității “Al. I. Cuza” Iași.

ANEXO I

PRANCHAS FOTOGRÁFICAS

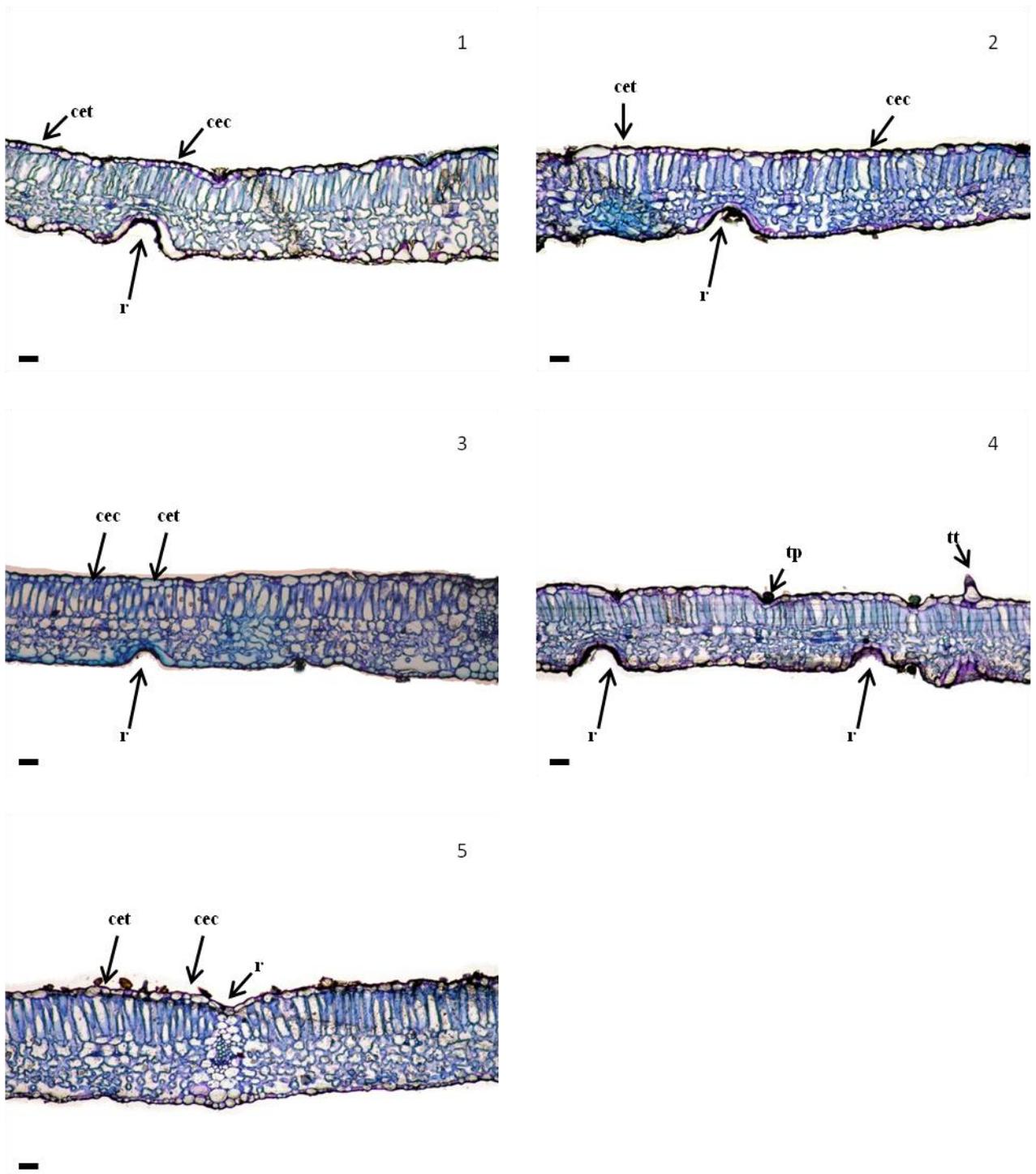


Figura 1.8 - Vista geral da lâmina foliar em corte transversal dos 5 acessos de *Ocimum* estudados .
 Figura 1 =acesso 1 (colunar roxo); 2 = acesso 2 (tradicional); 3 = acesso 3 (miúdo verde); 4= acesso 4 (híbrido) e 5= acesso 5 (miúdo roxo). r= reentrâncias; cec = células epidérmicas circulares; cet= células epidérmicas tabulares; tt= tricome tector e tp= tricome peltado. As barras indicam 50 µm.

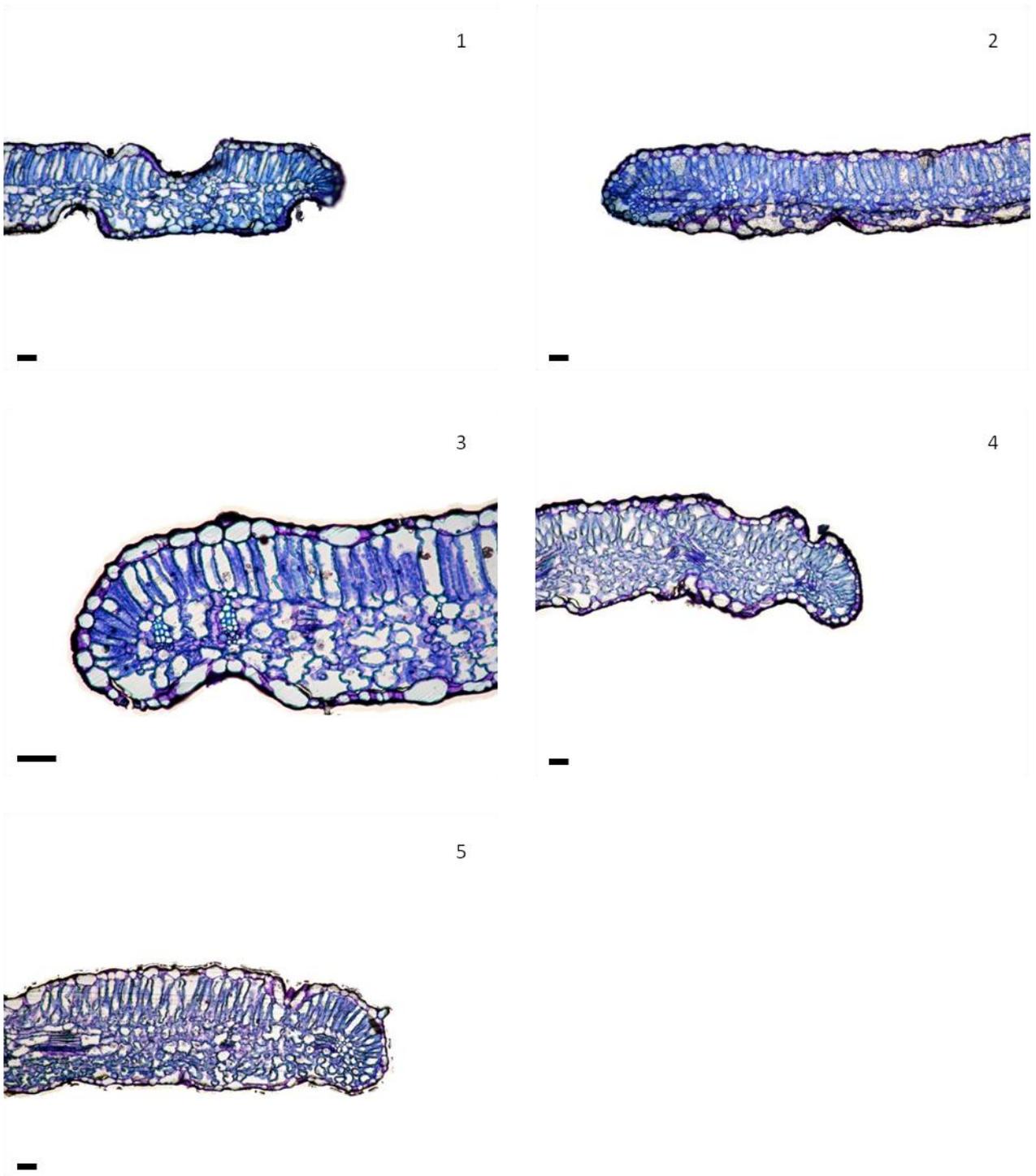


Figura 1.9 - Bordo foliar em corte transversal dos 5 acessos de *Ocimum* estudados . Figura 1 =acesso 1 (colunar roxo); 2 = acesso 2 (tradicional); 3 = acesso 3 (miúdo verde); 4= acesso 4 (hibrido) e 5= acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 50 μ m.

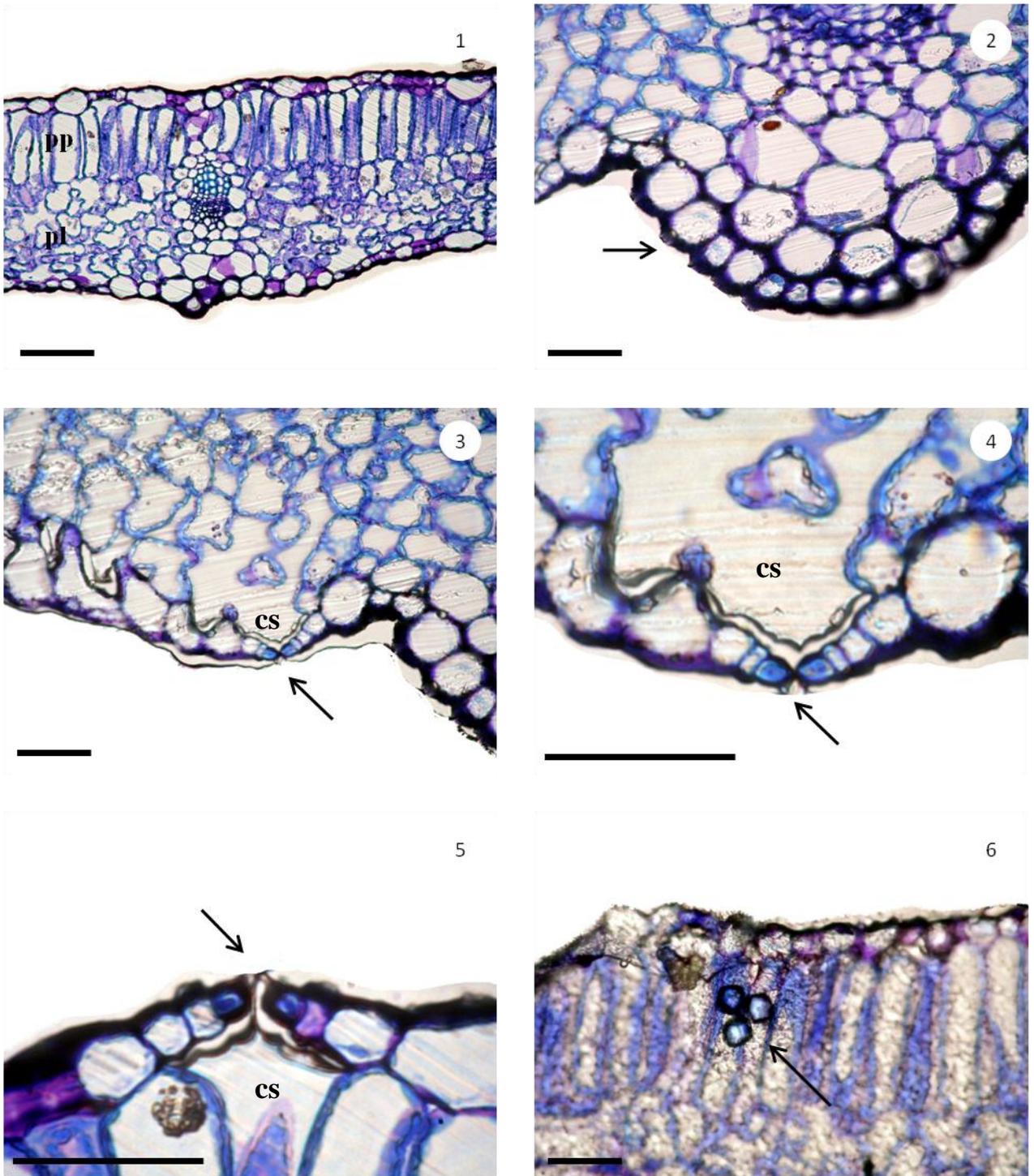


Figura 1.10 - 1 =Disposição do mesofilo em corte transversal do acesso 3 (miúdo verde); 2= ornamentação da cutícula do acesso 1 (colunar roxo); 3 e 4= detalhe do estômato do acesso 1; 5= estômato do acesso 3; 6= cristais do parênquima paliçádico do acesso 4 (híbrido). As siglas pp e pl indicam, respectivamente, parênquima paliçádico e parênquima lacunoso; cs = cavidade substomática. As barras indicam 50 μ m.

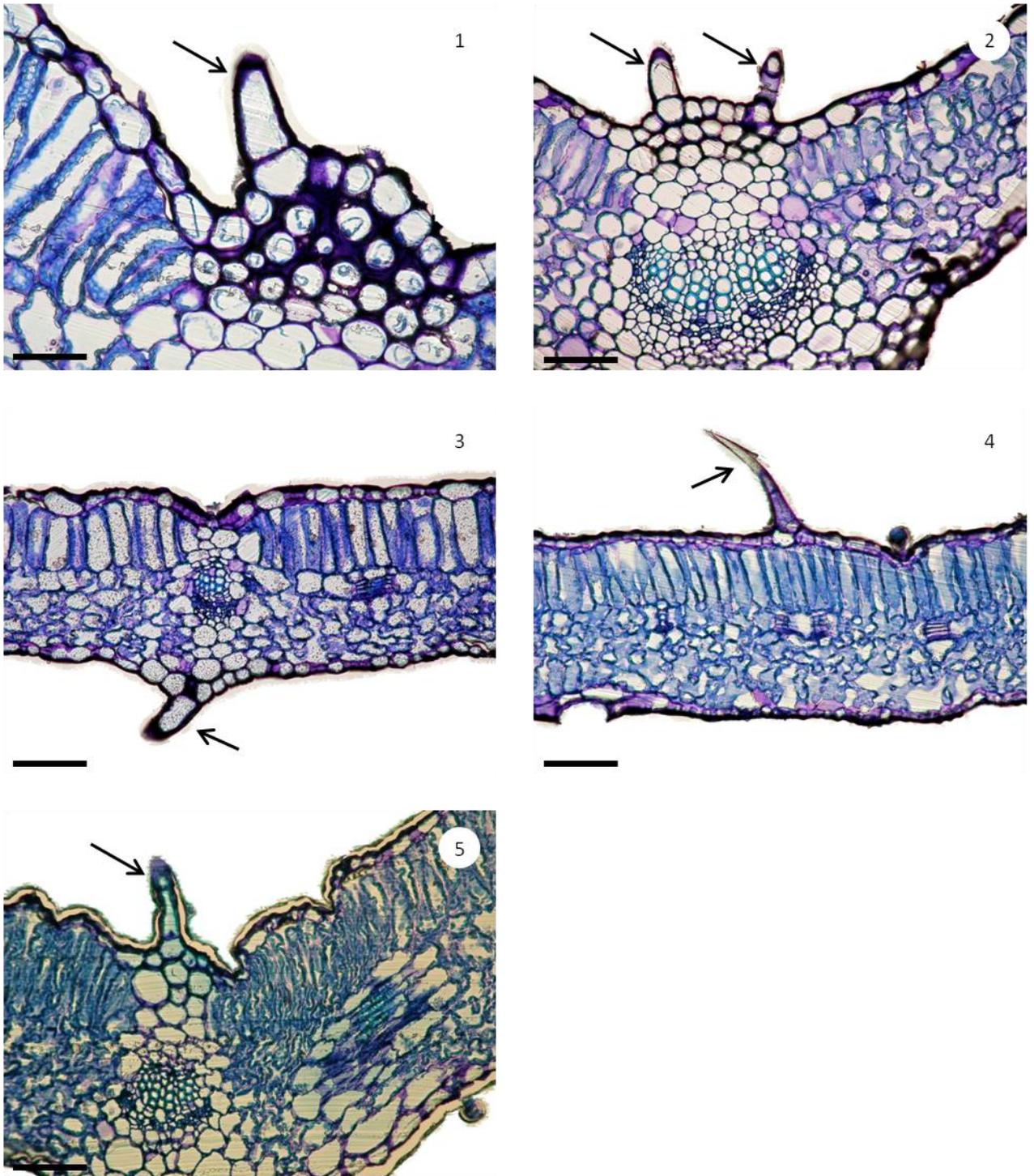


Figura 1.11 - Tricomas tectores das lâminas foliares em corte transversal dos 5 acessos de *Ocimum* estudados. Figura 1 =acesso 1 (colunar roxo); 2 = acesso 2 (tradicional); 3 = acesso 3 (miúdo verde); 4= acesso 4 (híbrido) e 5= acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 50 μ m.

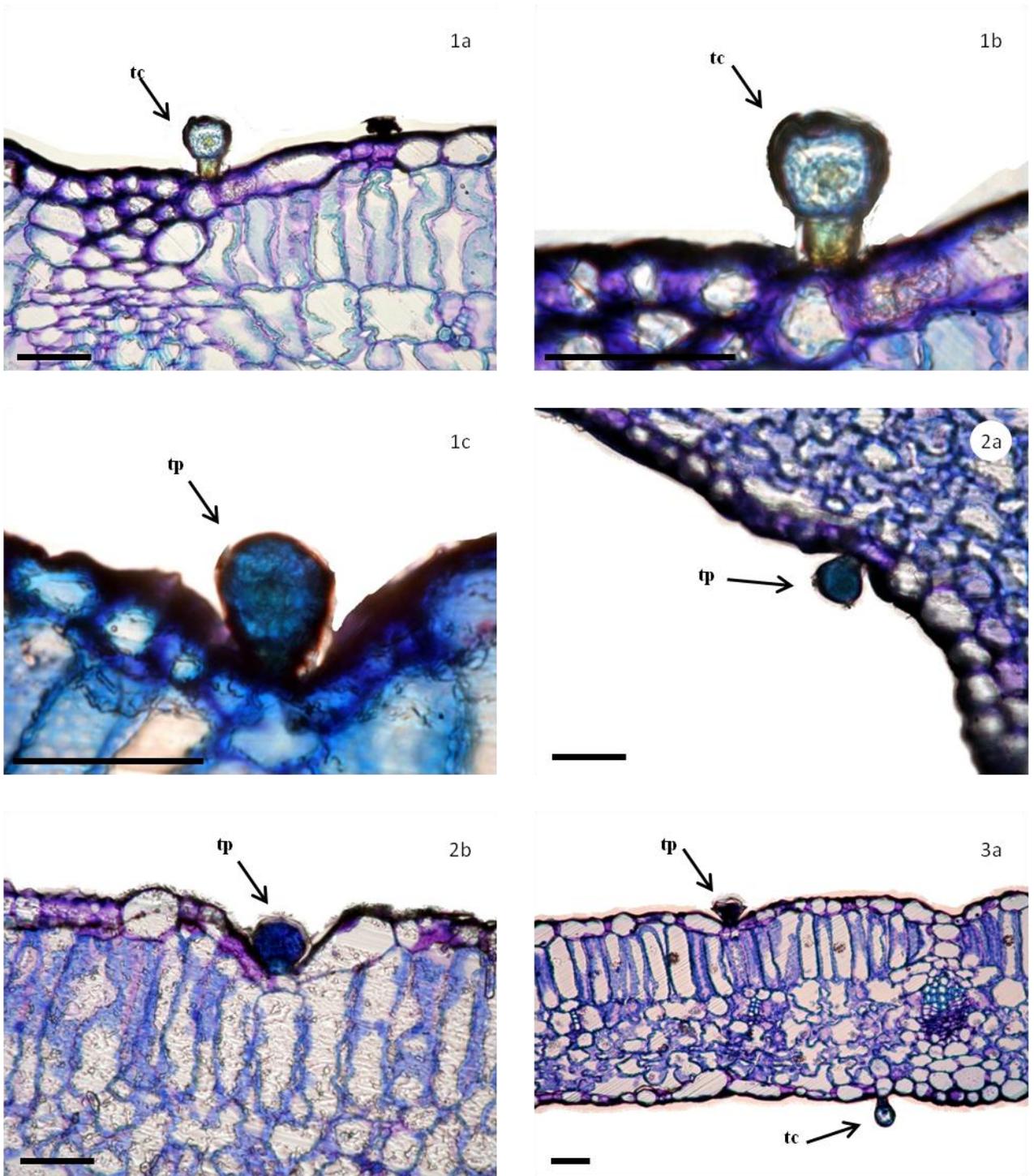


Figura 1.12 - Tricomas glandulares das folhas em corte transversal dos 5 acessos de *Ocimum* estudados. Fotos 1a, 1b e 1c acesso 1 (colunar roxo); 2a e 2b= acesso 2 (tradicional); 3a, 3b e 3c= acesso 3 (miúdo verde); 4a, 4b e 4 c= acesso 4 (híbrido) e 5a= acesso 5 (miúdo roxo). As abreviações tp e tc significam, respectivamente, tricoma glandular peltado e tricoma glandular capitado. As barras indicam 50 μ m.

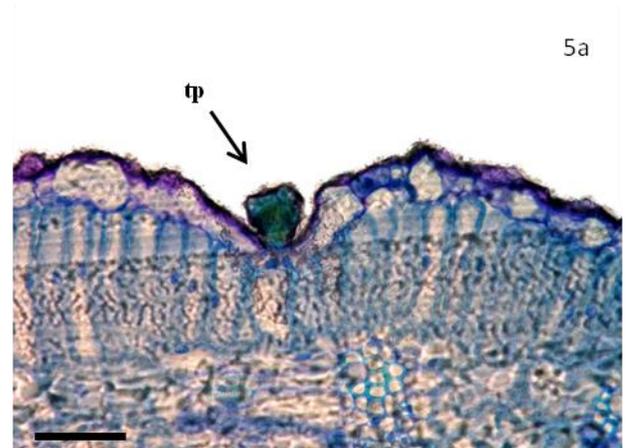
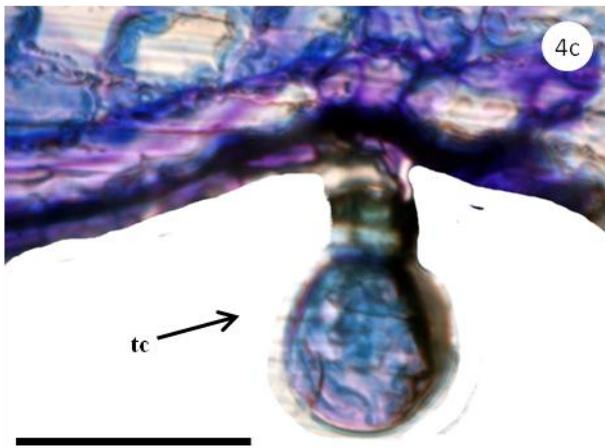
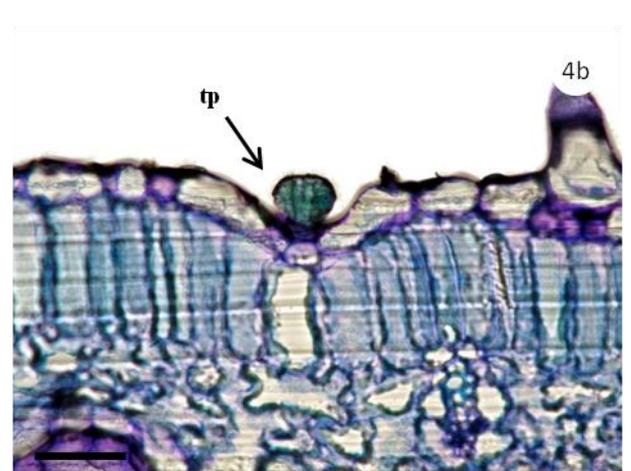
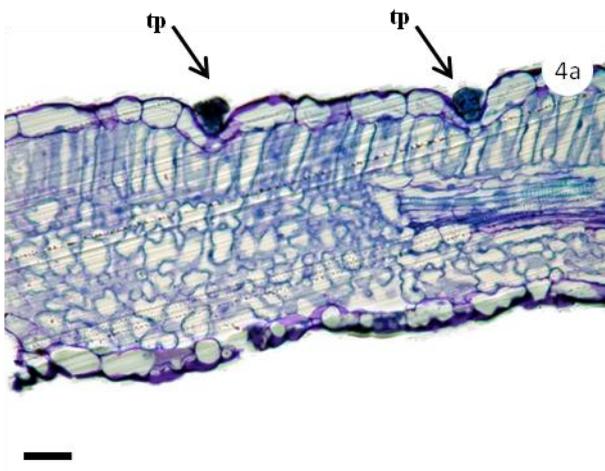
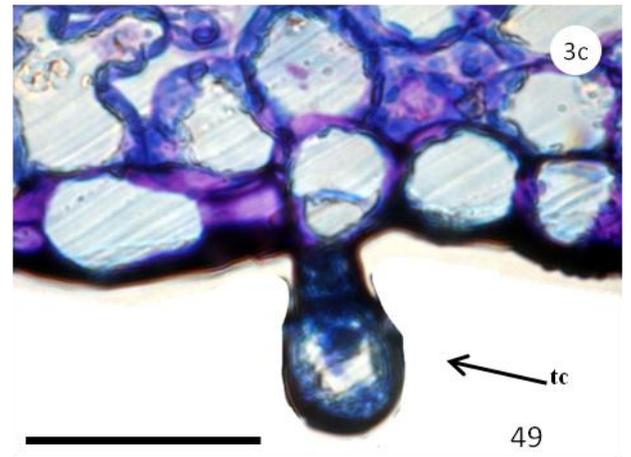


Figura 1.12 (Continuação) - Tricomas glandulares das folhas em corte transversal dos 5 acessos de *Ocimum* estudados. Fotos 1a, 1b e 1c acesso 1 (colunar roxo); 2a e 2b= acesso 2 (tradicional); 3a, 3b e 3c= acesso 3 (miúdo verde); 4a, 4b e 4 c= acesso 4 (híbrido) e 5a= acesso 5 (miúdo roxo). As abreviações tp e tc significam, respectivamente, tricoma glandular peltado e tricoma glandular capitado. As barras indicam 50 µm.

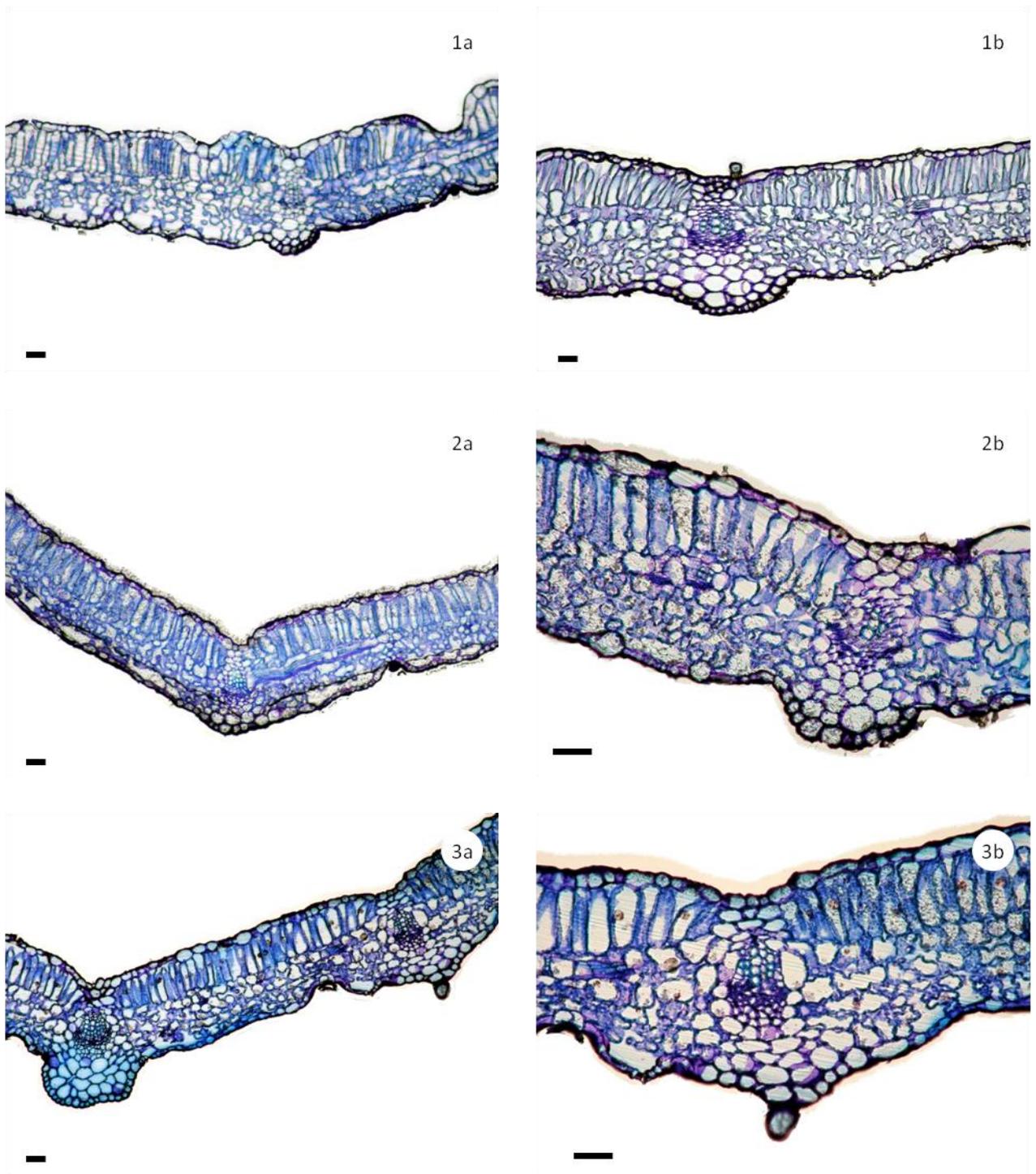


Figura 1.13 - Nervuras secundárias das lâminas foliares em corte transversal dos 5 acessos de *Ocimum* estudados. - a-Visão geral das nervuras secundárias; b-Detalhe do feixe vascular. Foto 1a e 1b representam o acesso 1 (colunar roxo); 2a e 2b o acesso 2(tradicional); 3a e 3b o acesso 3(miúdo verde); 4a e 4b o acesso 4 (híbrido) e 5a e 5b o acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 50 μ m.

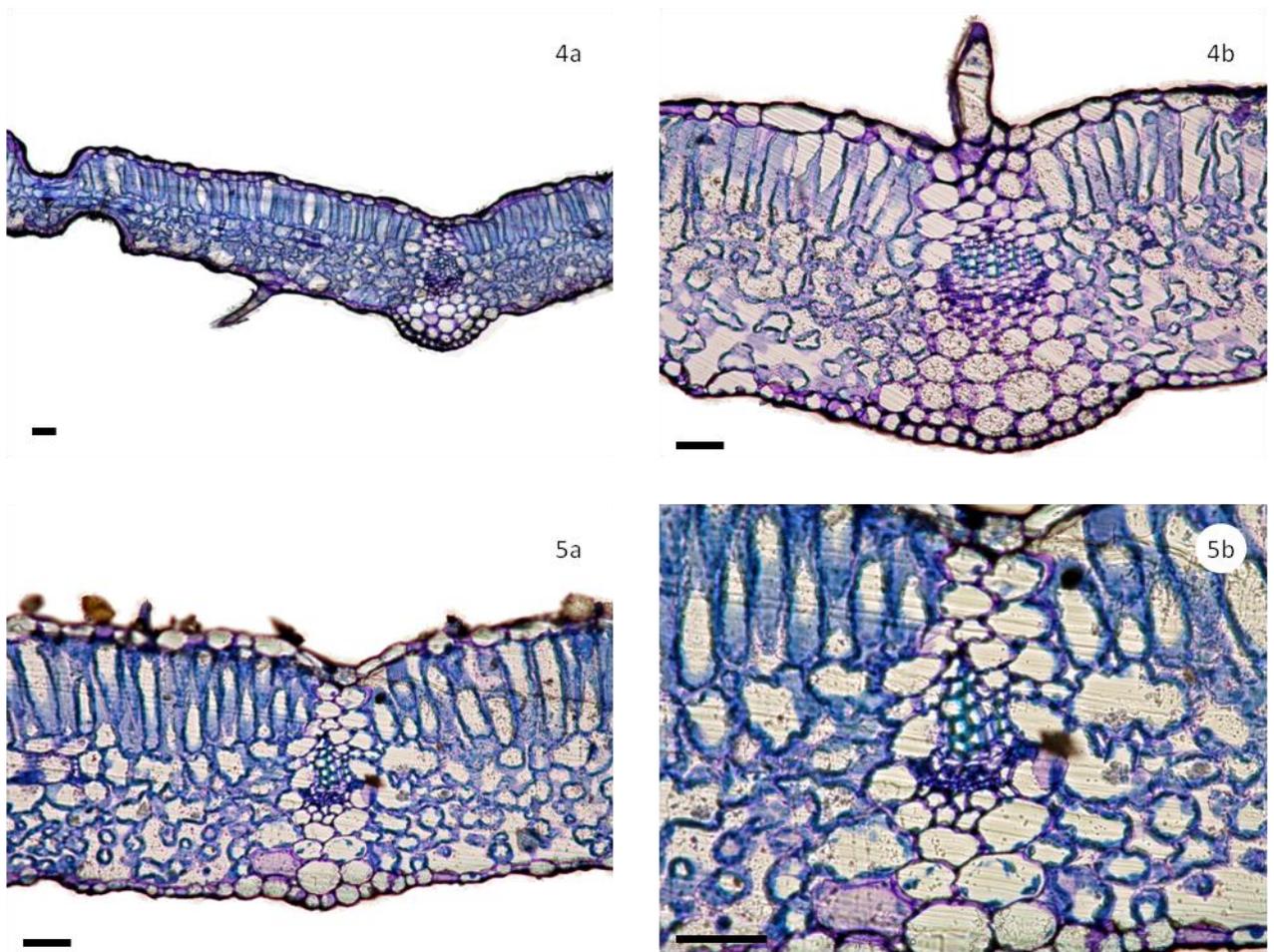


Figura 1.13 (Continuação) - Nervuras secundárias das lâminas foliares em corte transversal dos 5 acessos de *Ocimum* estudados. - a-Visão geral das nervuras secundárias; b-Detalhe do feixe vascular. Foto 1a e 1b representam o acesso 1 (colunar roxo); 2a e 2b o acesso 2(tradicional); 3a e 3b o acesso 3(miúdo verde); 4a e 4b o acesso 4 (híbrido) e 5a e 5b o acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 50 µm.

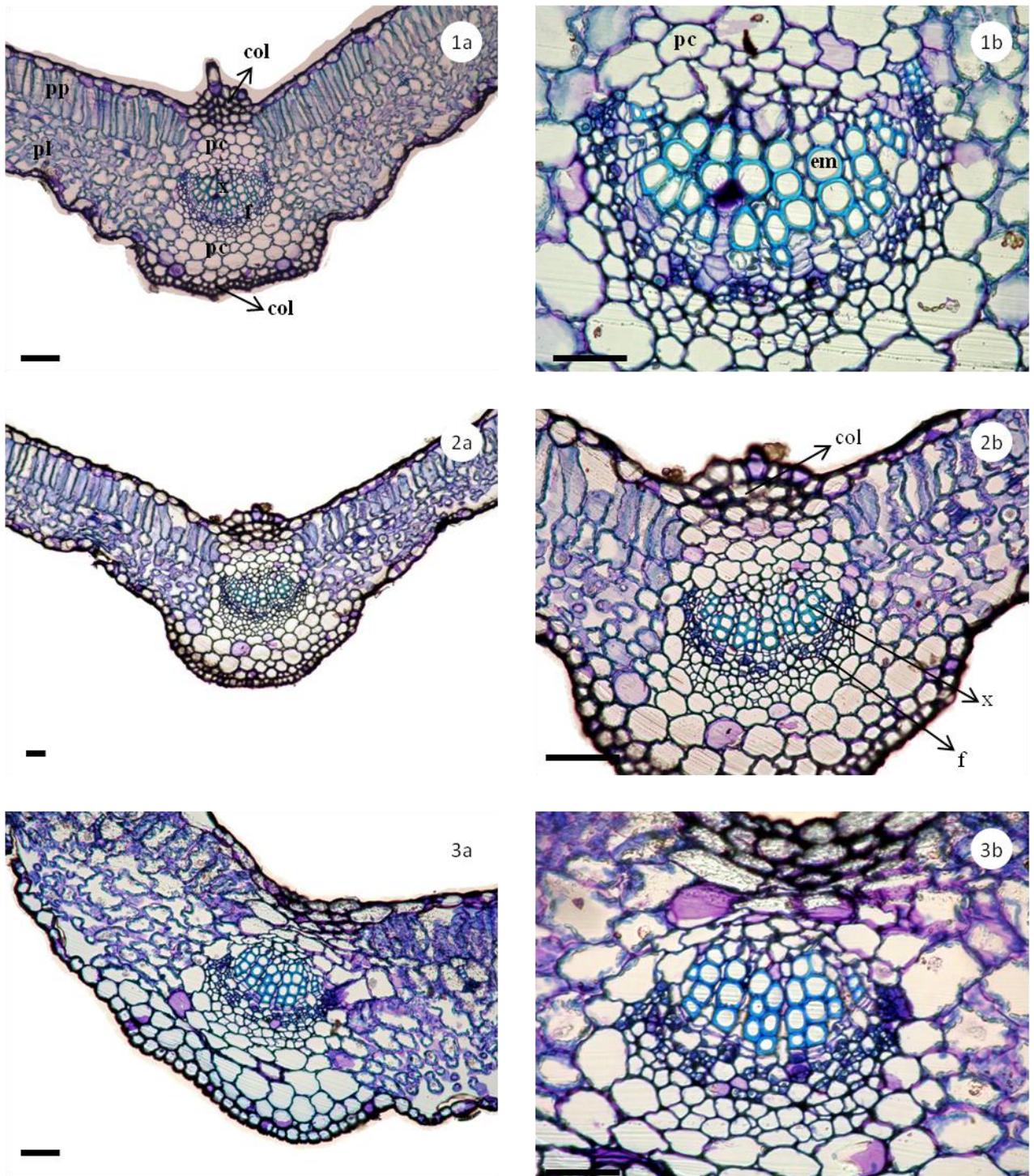


Figura 1.14 - Nervuras principais das lâminas foliares em corte transversal dos 5 acessos de *Ocimum* estudados. - a-Visão geral das nervuras principais; b-Detalhe do feixe vascular. Foto 1a e 1b representam o acesso 1(colunar roxo); 2a e 2b o acesso 2(tradicional); 3a e 3b o acesso 3(miúdo verde) ; 4a e 4b o acesso 4 (híbrido) e 5a e 5b o acesso 5(miúdo roxo). Formato do feixe vascular: semicírculo aberto nos acessos 2, 3 e 4; semicírculo fechado no acesso 1 e linear no acesso 5. x= xilema; f= floema; col= colênquima; pp= parênquima paliádico; pl= parênquima lacunoso ; pc= parênquima clorofiliano; em= elemento de metaxilema. As barras indicam 50 μ m.

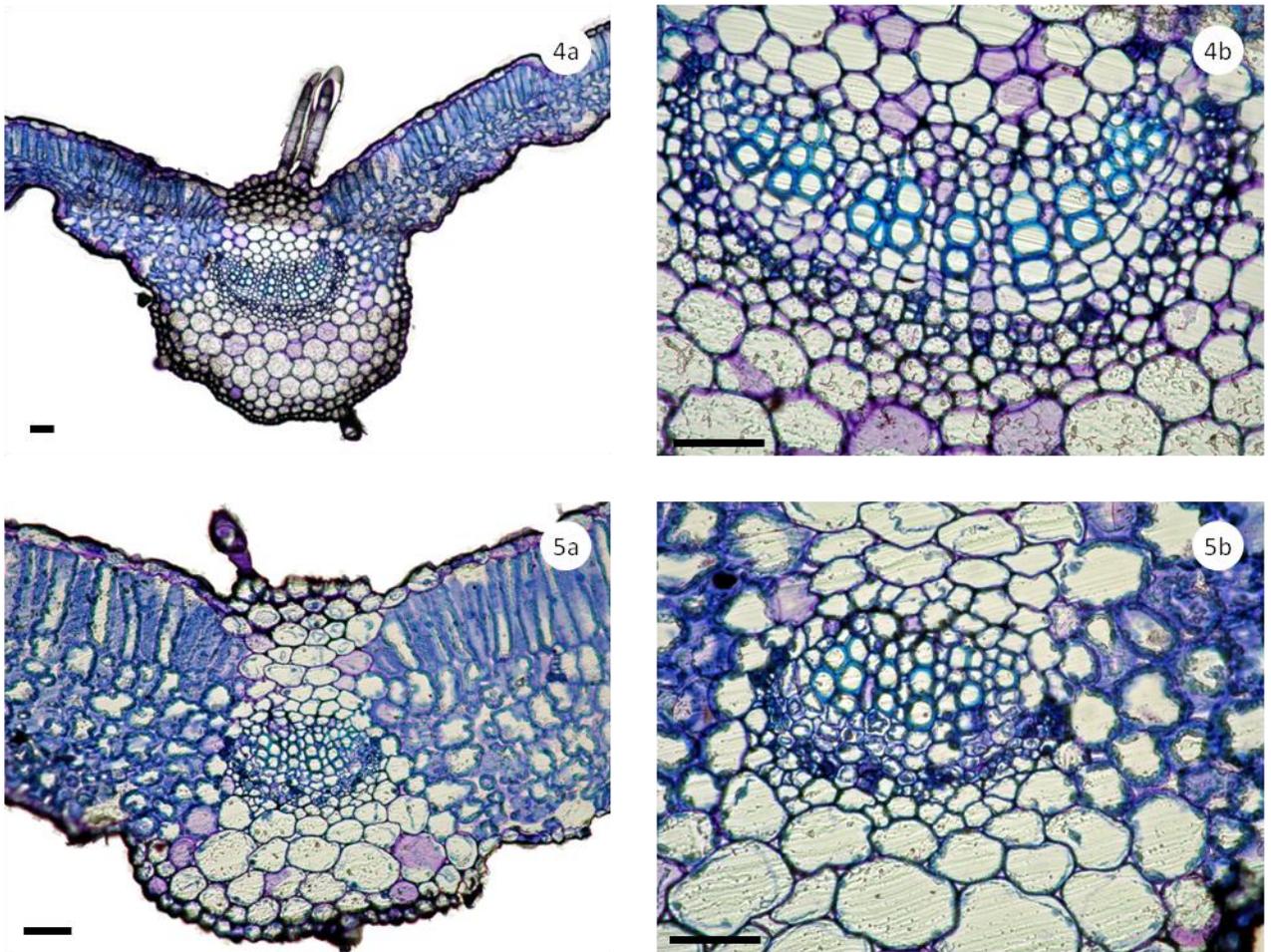


Figura 1.14 (Continuação) - Nervuras principais das lâminas foliares em corte transversal dos 5 acessos de *Ocimum* estudados. - a-Visão geral das nervuras principais; b-Detalhe do feixe vascular. Foto 1a e 1b representam o acesso 1(colunar roxo); 2a e 2b o acesso 2(tradicional); 3a e 3b o acesso 3(miúdo verde); 4a e 4b o acesso 4 (híbrido) e 5a e 5b o acesso 5(miúdo roxo). Formato do feixe vascular: semicírculo aberto nos acessos 2, 3 e 4; semicírculo fechado no acesso 1 e linear no acesso 5. x= xilema; f= floema; col= colênquima; pp= parênquima paliádico; pl= parênquima lacunoso ; pc= parênquima clorofiliano; em= elemento de metaxilema. As barras indicam 50 μ m.

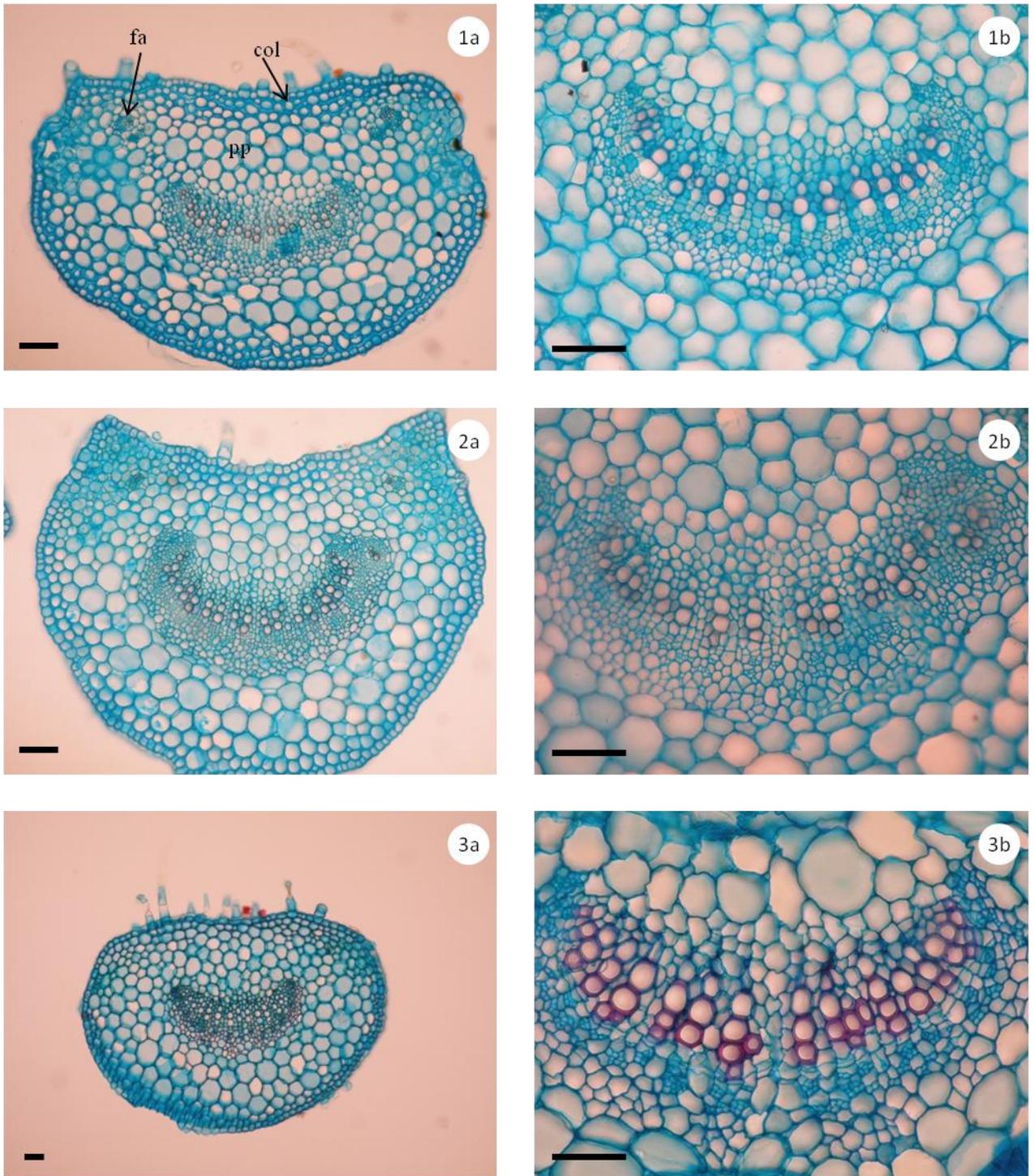


Figura 1.15 - Corte transversal do Pecíolo - a-Visão geral do pecíolo dos 5 acessos de *Ocimum*; b-Detalhe do feixe vascular. As fotos 1a e 1b representam o acesso 1 (colunar roxo); 2a e 2b o acesso 2 (tradicional); 3a e 3b o acesso 3 (miúdo verde); 4a e 4b o acesso 4 (híbrido) e 5a e 5b o acesso 5 (miúdo roxo). pp= parênquima de preenchimento; col= colênquima; fa= feixes acessórios. As barras indicam 50 μ m.

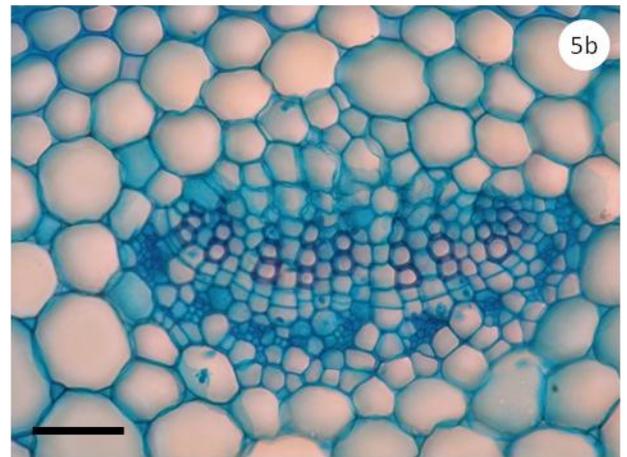
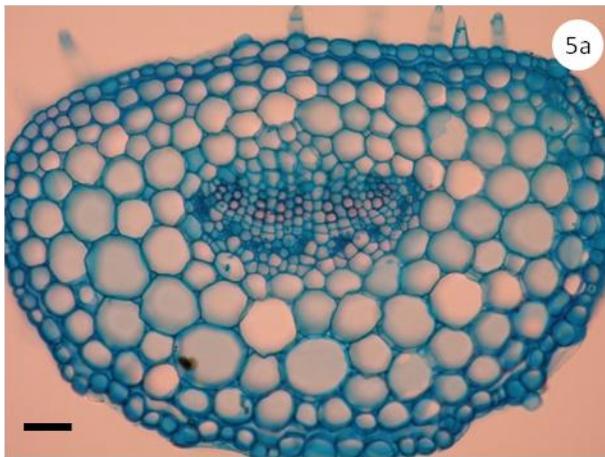
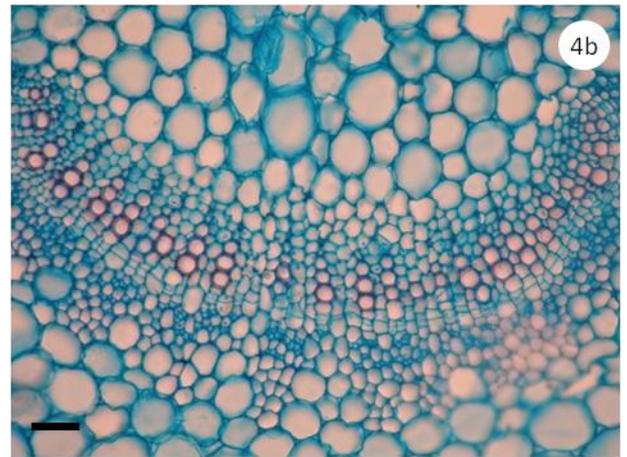
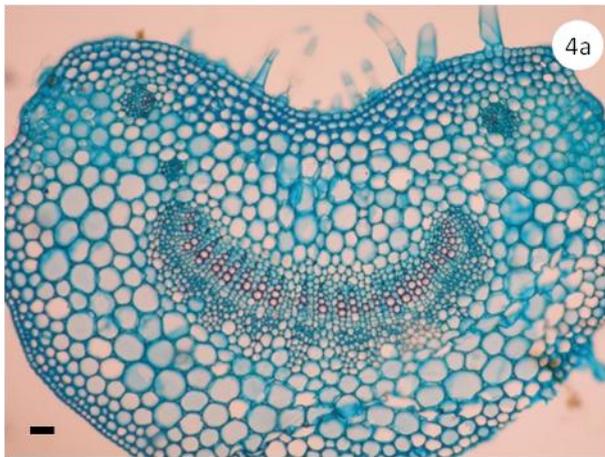


Figura 1.15 (Continuação) - Corte transversal do Pecíolo - a-Visão geral do pecíolo dos 5 acessos de *Ocimum*; b-Detalhe do feixe vascular. As fotos 1a e 1b representam o acesso 1 (colunar roxo); 2a e 2b o acesso 2 (tradicional); 3a e 3b o acesso 3 (miúdo verde); 4a e 4b o acesso 4 (híbrido) e 5a e 5b o acesso 5 (miúdo roxo). pp= parênquima de preenchimento; col= colênquima; fa= feixes acessórios. As barras indicam 50 μm .

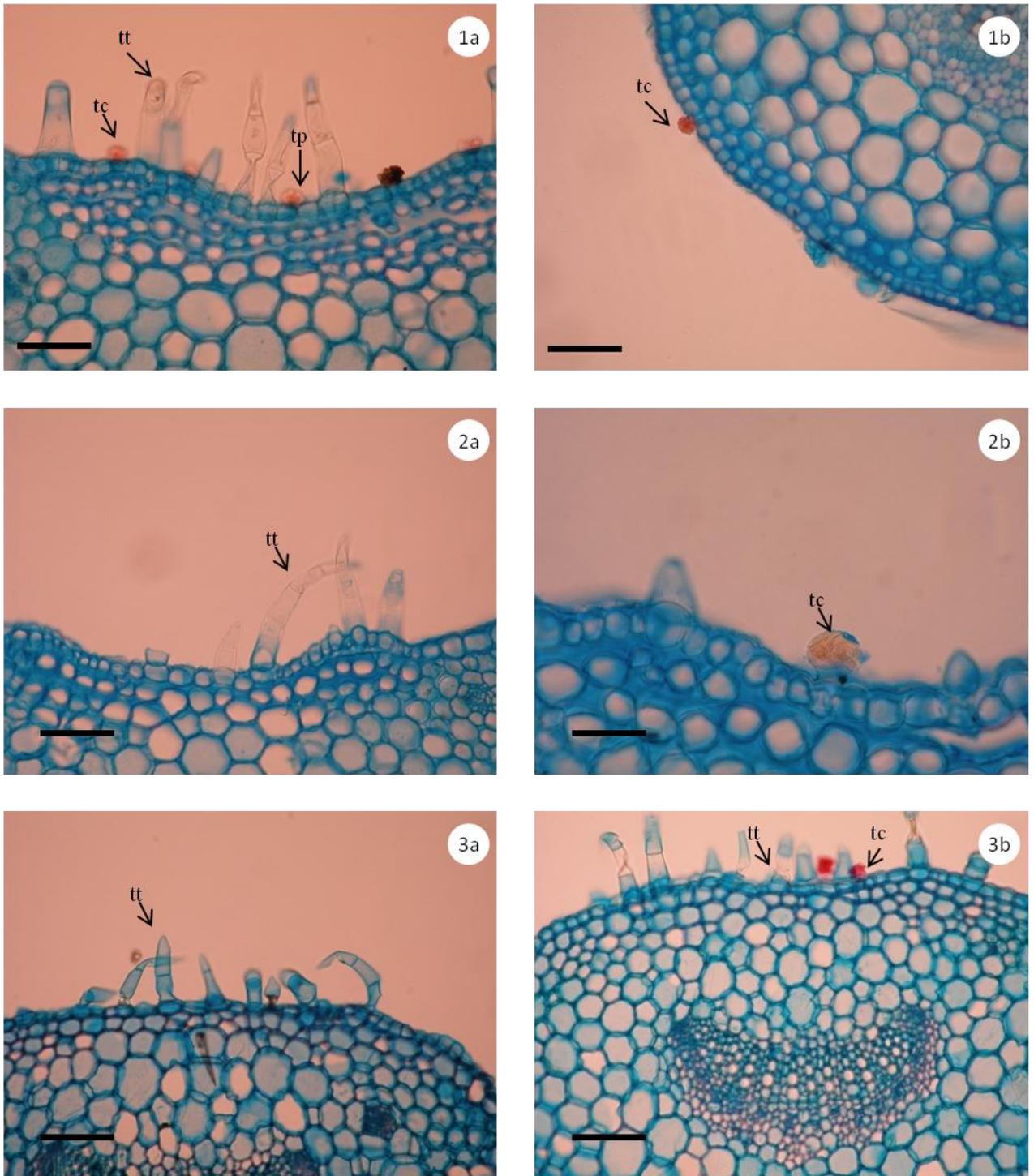


Figura 1.16 - Corte transversal do peciolo de *Ocimum*. a e b – Detalhe da epiderme com tricomas glandulares e tectores. As fotos 1a e 1b representam o acesso 1 (colunar roxo); 2a e 2b o acesso 2 (tradicional); 3a e 3b o acesso 3 (miúdo verde); 4a e 4b o acesso 4 (híbrido) e 5a o acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 50 μ m.

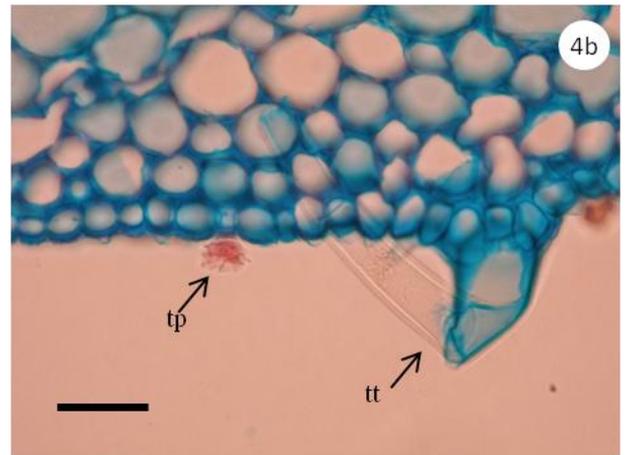


Figura 1.16 (Continuação) - Corte transversal do pecíolo de *Ocimum*. a e b – Detalhe da epiderme com tricomas glandulares e tectores. As fotos 1a e 1b representam o acesso 1 (colunar roxo); 2a e 2b o acesso 2 (tradicional); 3a e 3b o acesso 3 (miúdo verde); 4a e 4b o acesso 4 (híbrido) e 5a o acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 50 μ m.

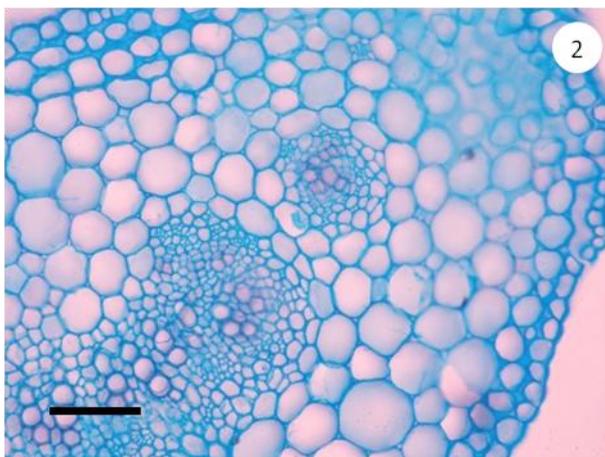


Figura 1.17 - Corte transversal de *Ocimum*. Detalhe dos feixes acessórios no pecíolo dos acessos 2 (tradicional), foto 2 e 4 (híbrido), foto 4. As barra indicam 50 μ m.

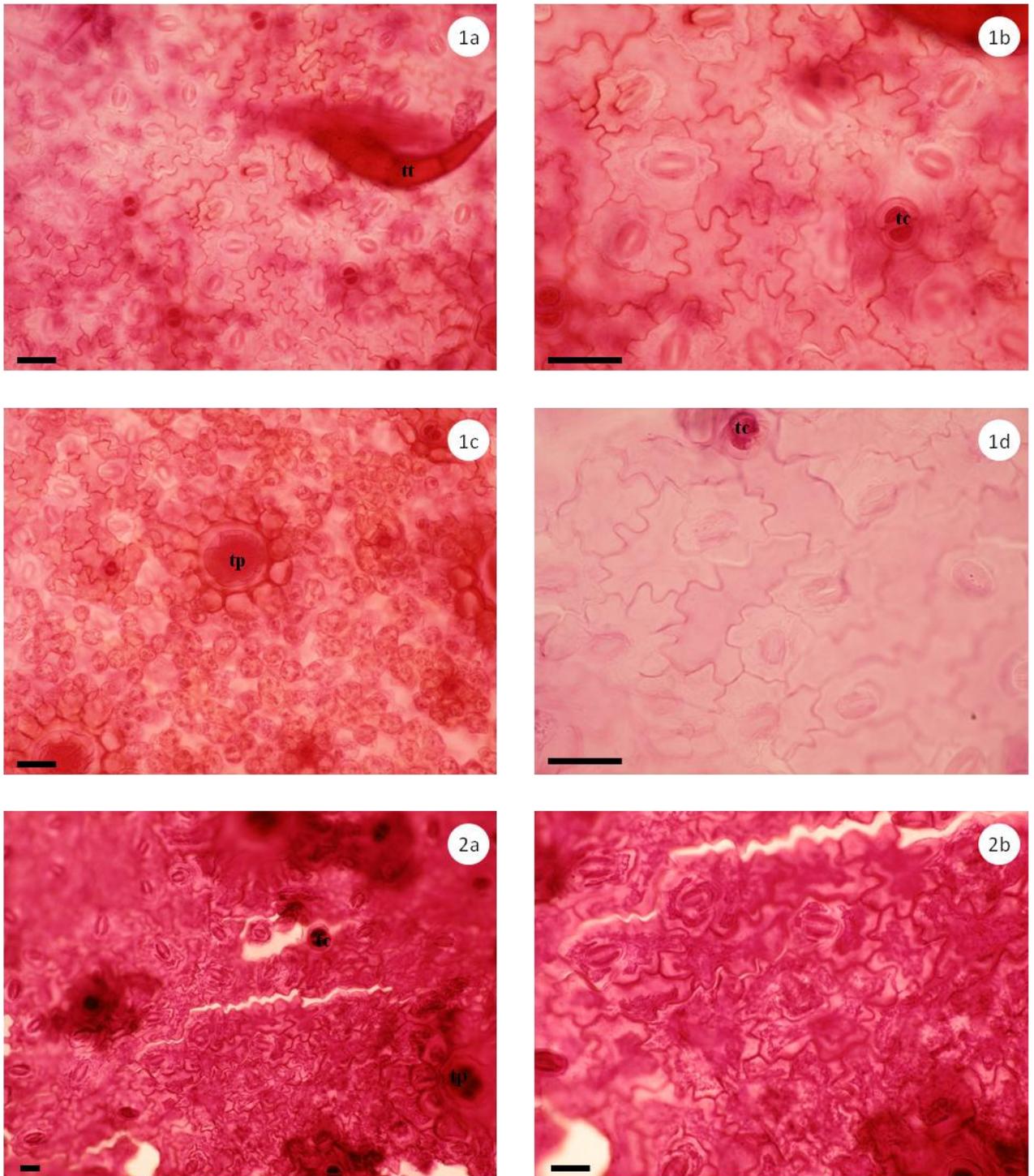


Figura 1.18 - Cortes paradérmicos das lâminas foliares de *Ocimum*. Fotos 1a, 1b, 1c e 1d indicam fotos do acesso 1 (colunar roxo); 2a, 2b, 2c e 2d acesso 2(tradicional); 3a, 3b, 3c e 3d acesso 3(miúdo verde); 4a e 4b acesso 4 (híbrido) e 5a, 5b, 5c e 5d acesso 5(miúdo roxo). s siglas tt, tp e tc significam, respectivamente, tricoma tector, tricoma peltado e tricoma capitado. As barras representam 50 μm .

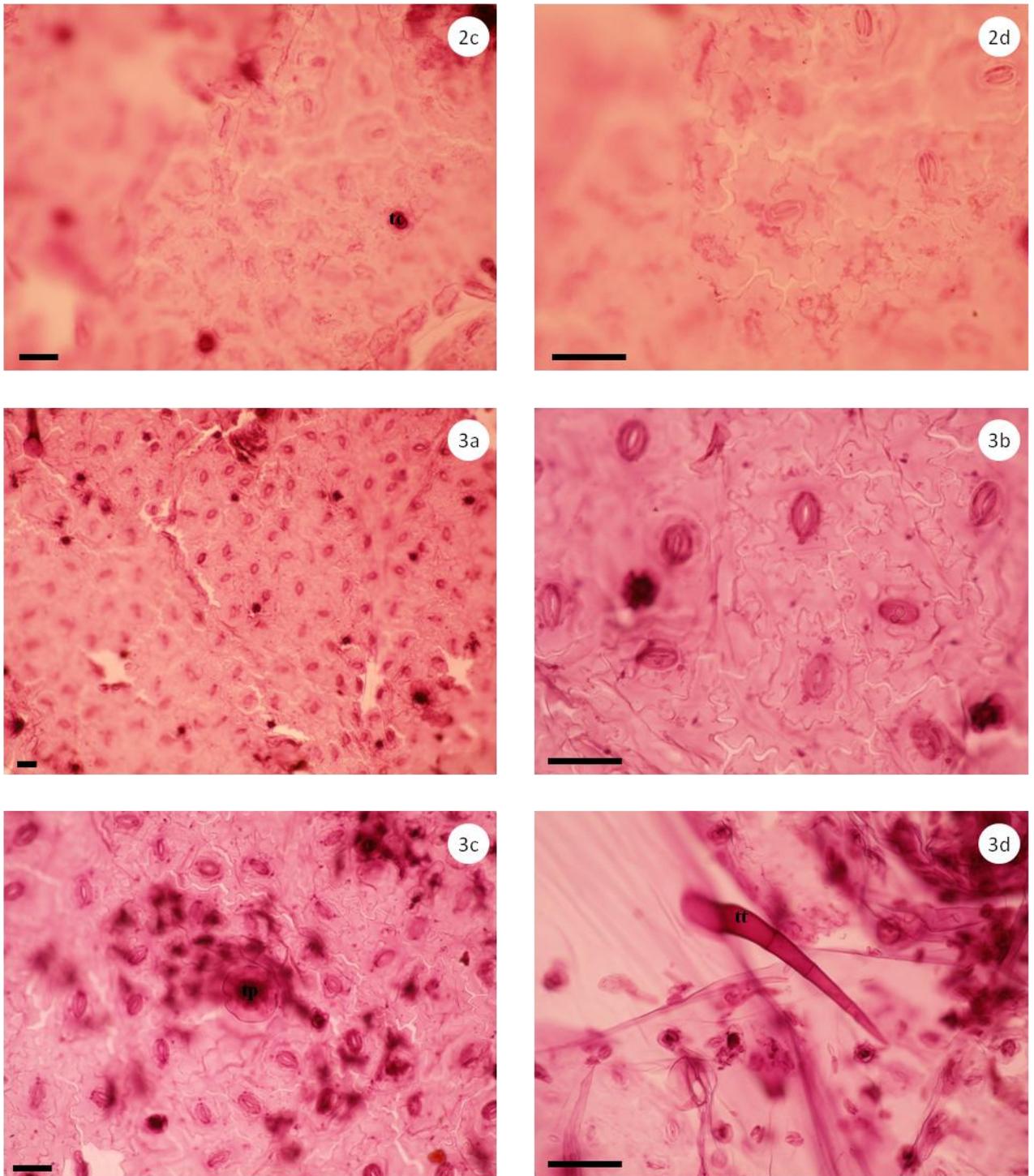


Figura 1.18 (Continuação) - Cortes paradérmicos das lâminas foliares de *Ocimum*. Fotos 1a, 1b, 1c e 1d indicam fotos do acesso 1 (colunar roxo); 2a, 2b, 2c e 2d acesso 2(tradicional); 3a, 3b, 3c e 3d acesso 3(miúdo verde); 4a e 4b acesso 4 (hibrido) e 5a, 5b, 5c e 5d acesso 5(miúdo roxo). s siglas tt, tp e tc significam, respectivamente, tricoma tector, tricoma peltado e tricoma capitado. As barras representam 50 μ m.

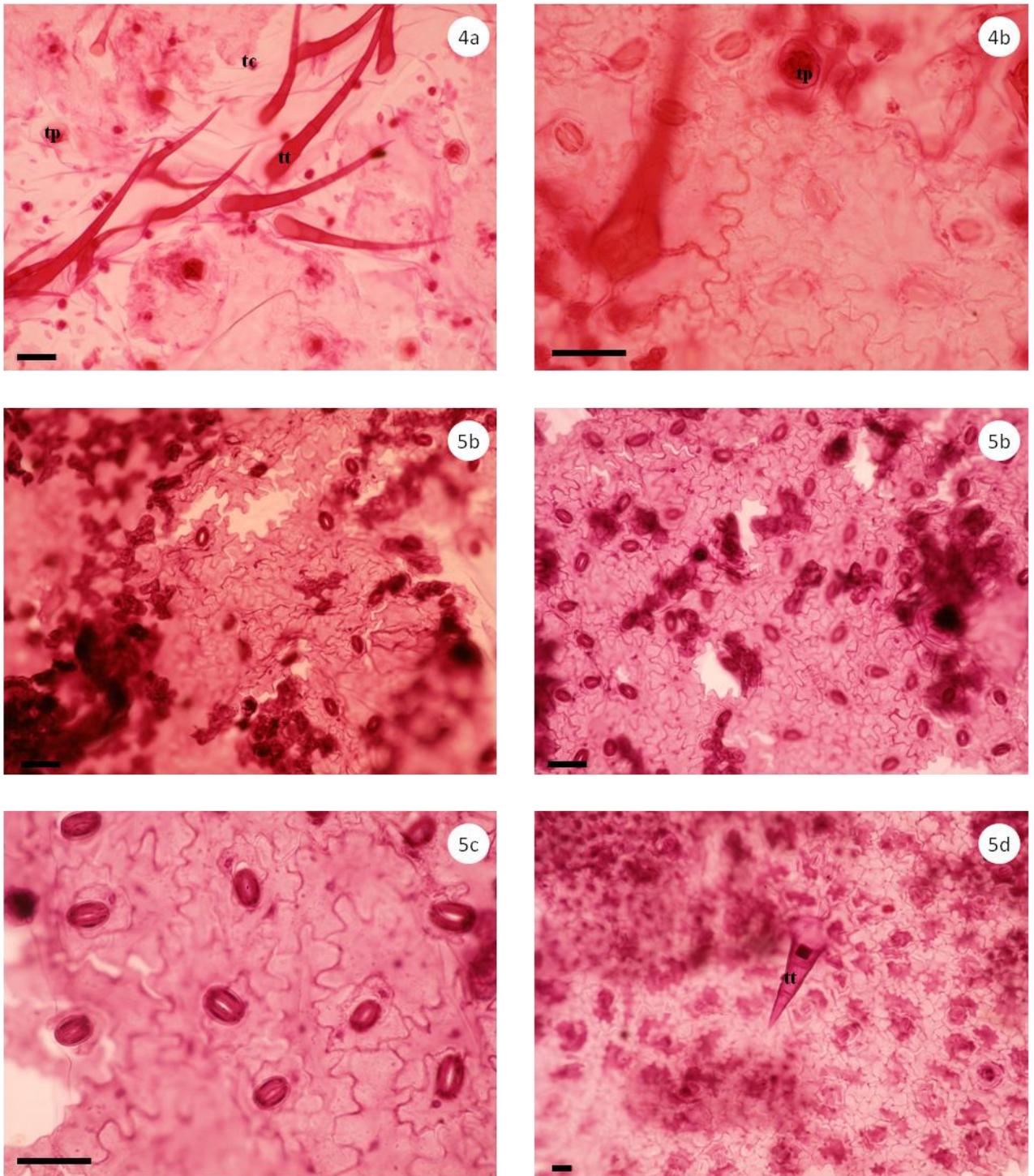


Figura 1.18 (Continuação) - Cortes paradérmicos das lâminas foliares de *Ocimum*. Fotos 1a, 1b, 1c e 1d indicam fotos do acesso 1 (colunar roxo); 2a, 2b, 2c e 2d acesso 2(tradicional); 3a, 3b, 3c e 3d acesso 3(miúdo verde); 4a e 4b acesso 4 (hibrido) e 5a, 5b, 5c e 5d acesso 5(miúdo roxo). s siglas tt, tp e tc significam, respectivamente, tricoma tector, tricoma peltado e tricoma capitado. As barras representam 50 μ m.

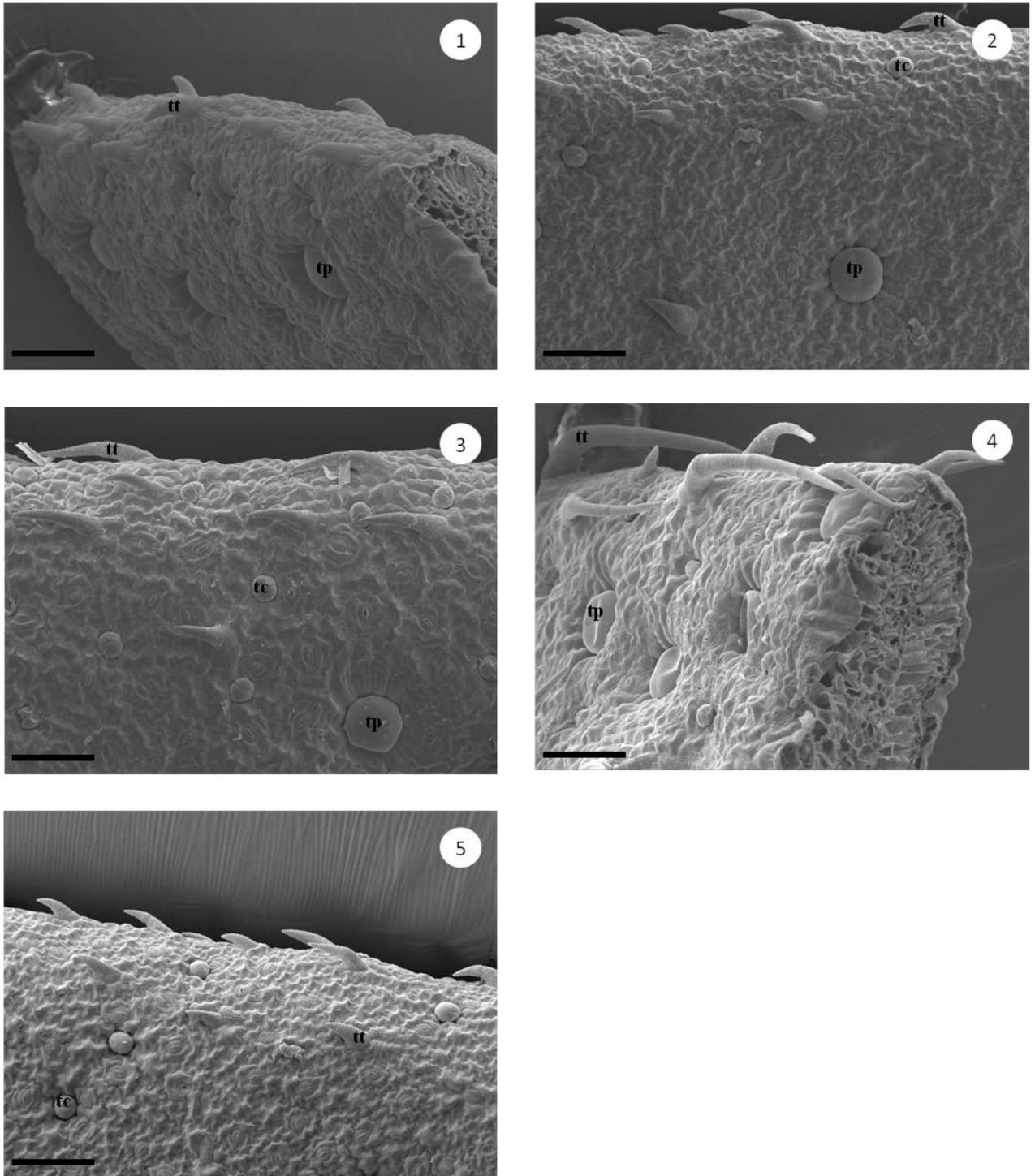


Figura 1.19 - Microscopia Eletrônica de Varredura dos bordos foliares dos 5 acessos de *Ocimum*. Detalhe do bordo mostrando tricomas tectores (tt), peltados (tp), capitados (tc) e estômatos. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). As barras representam a escala de 100µm.

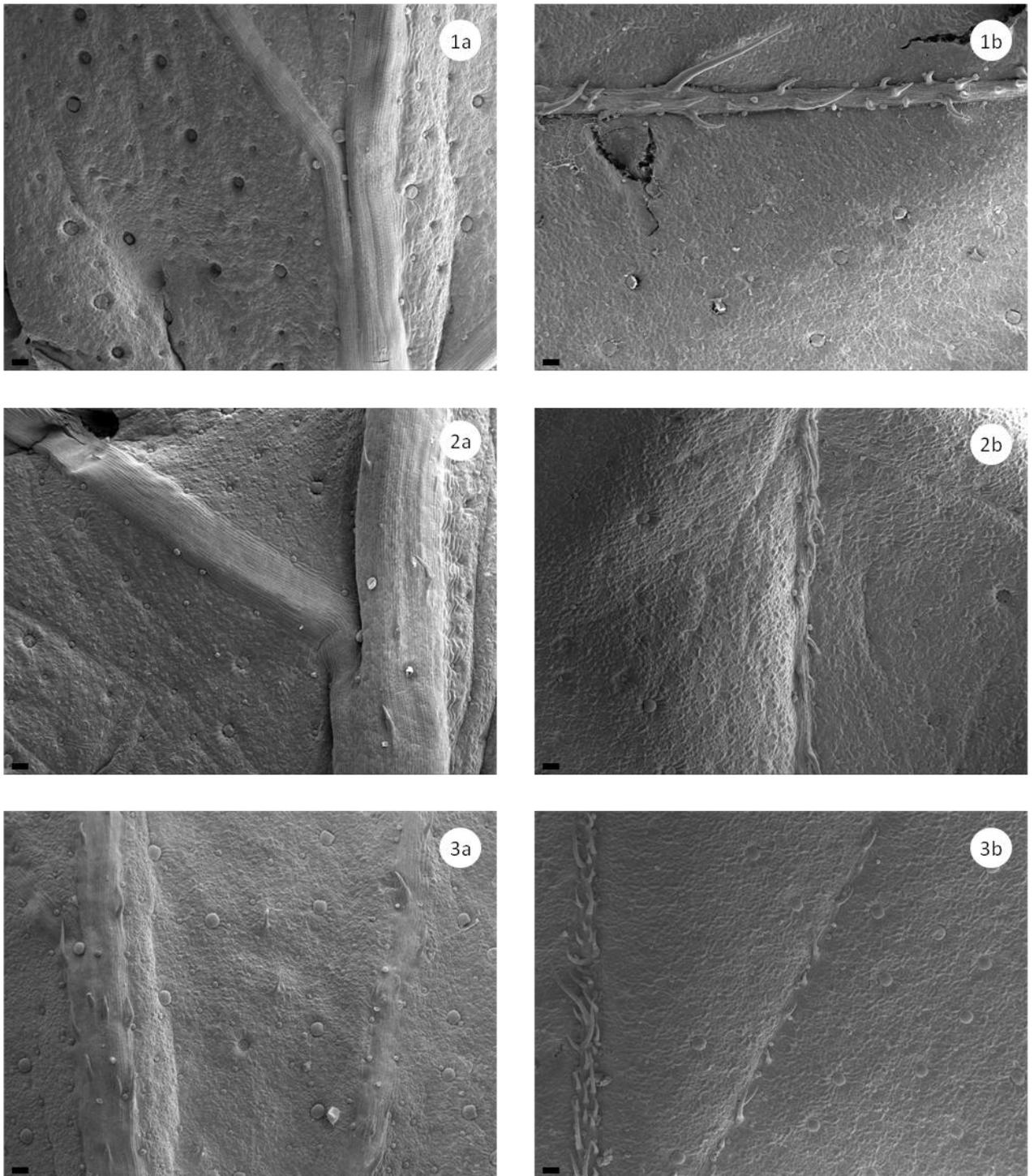


Figura 1.20 - Microscopia Eletrônica de Varredura da vista geral das lâminas foliares dos 5 acessos de *Ocimum* estudados. a- Face abaxial; b- Face adaxial. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 100 μ m.

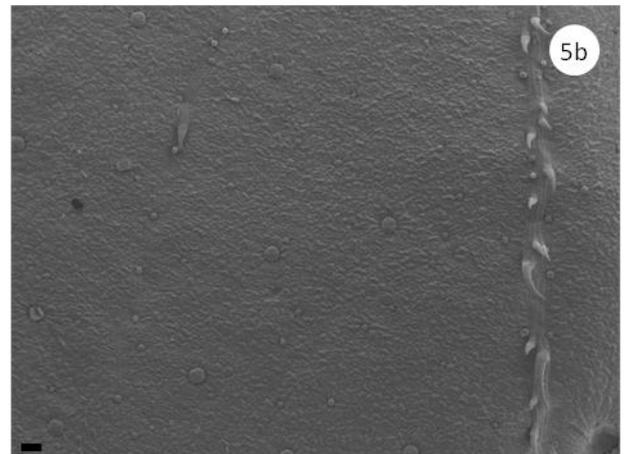
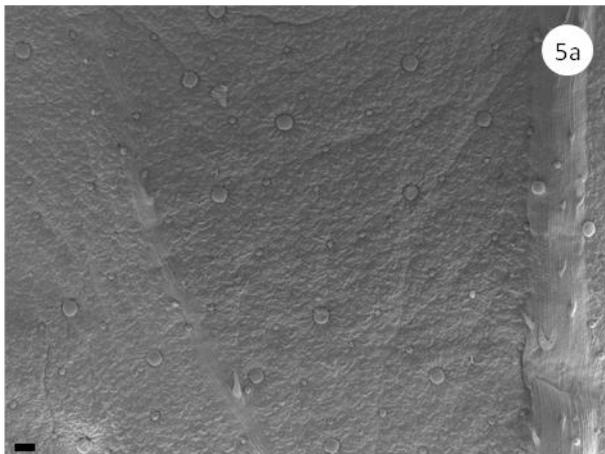
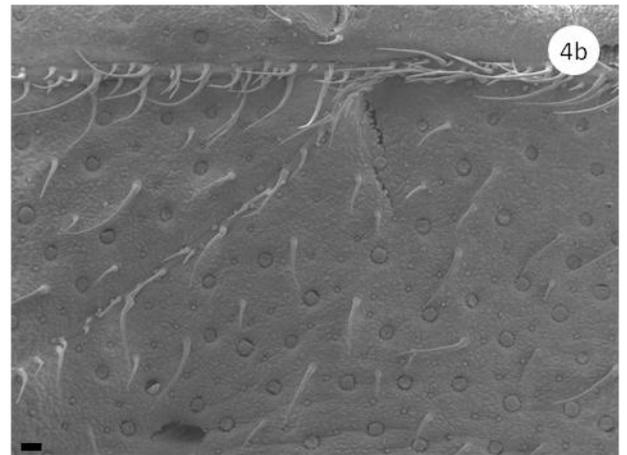
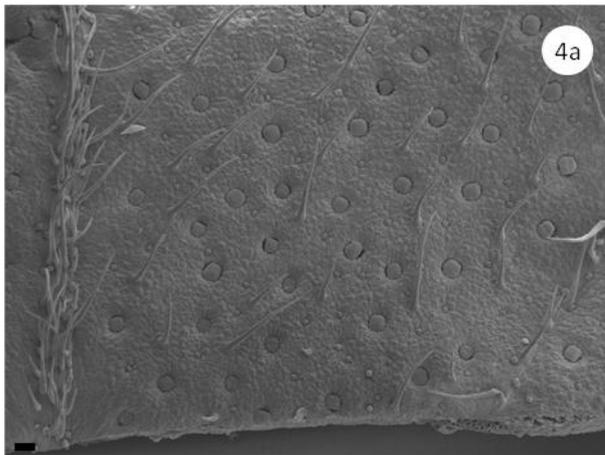


Figura 1.20 (Continuação) - Microscopia Eletrônica de Varredura da vista geral das lâminas foliares dos 5 acessos de *Ocimum* estudados. a- Face abaxial; b- Face adaxial. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2=acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 100 μm .

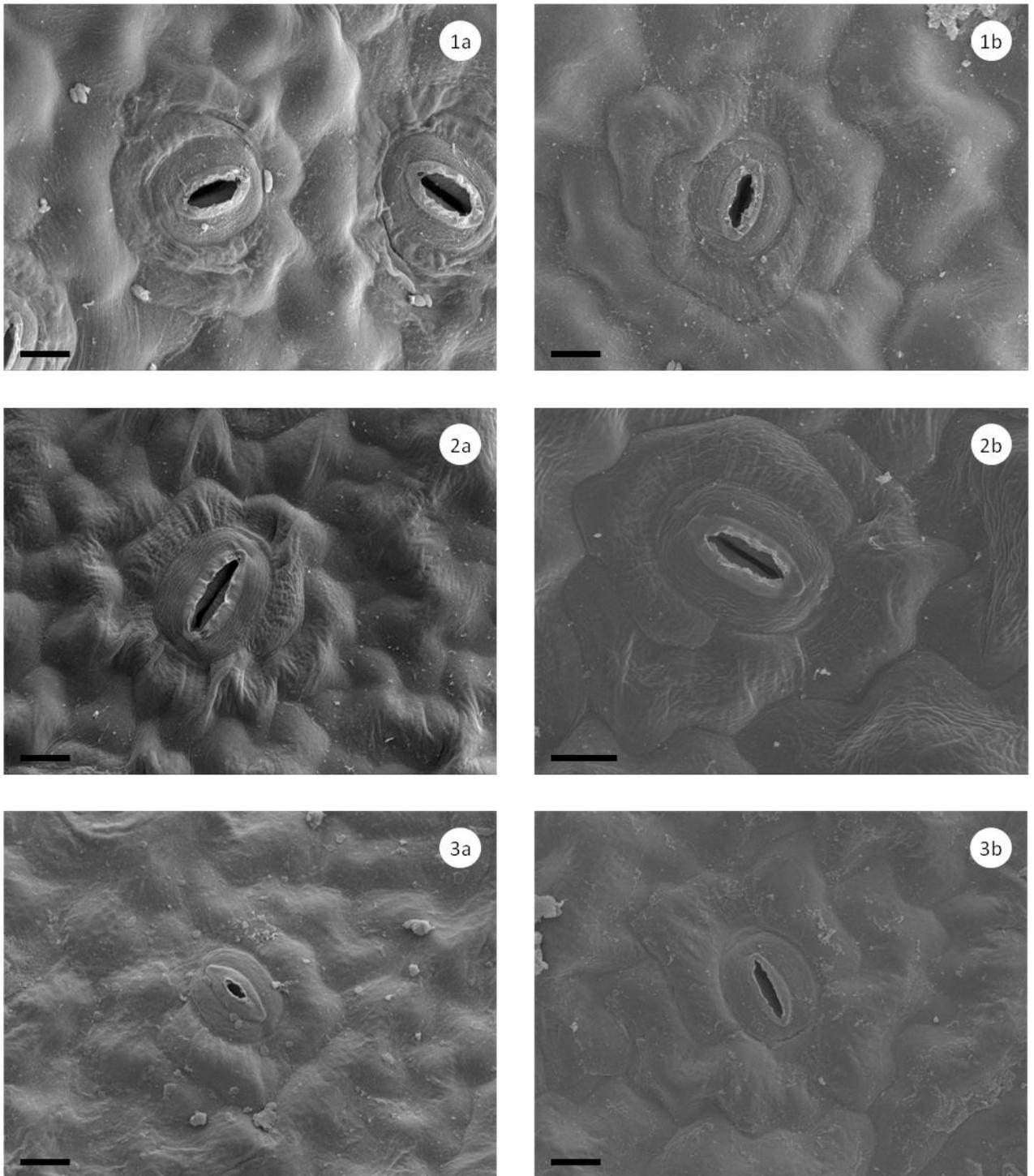


Figura 1.21 - Microscopia Eletrônica de Varredura dos estômatos diacíticos nos acessos de *Ocimum*. a- Face abaxial; b- Face adaxial. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 10 μm .

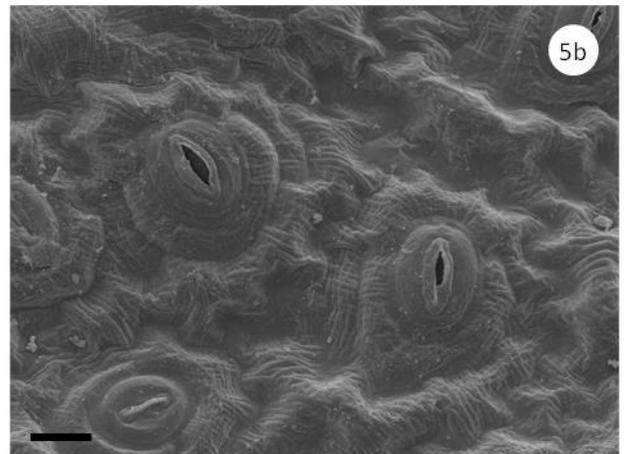
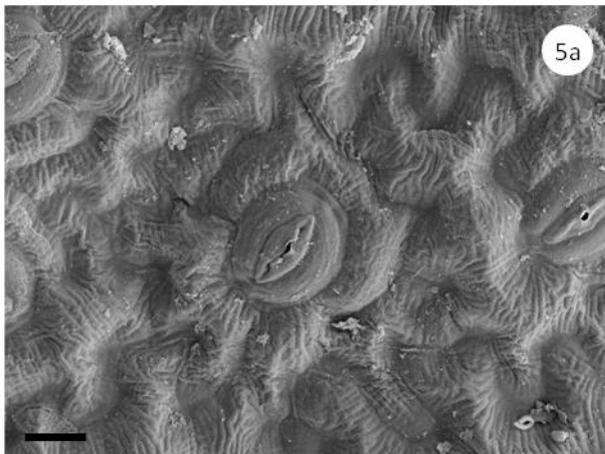
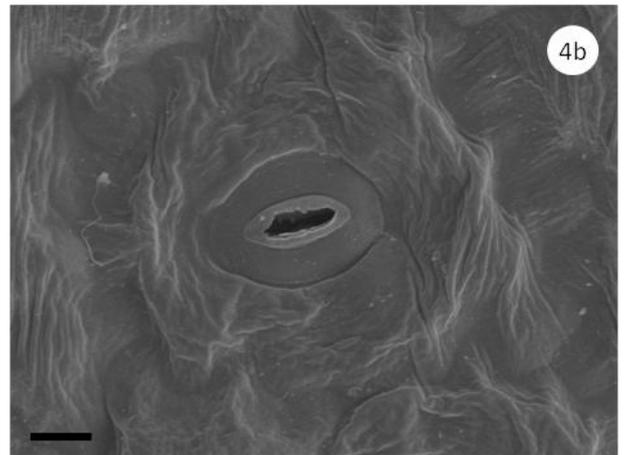
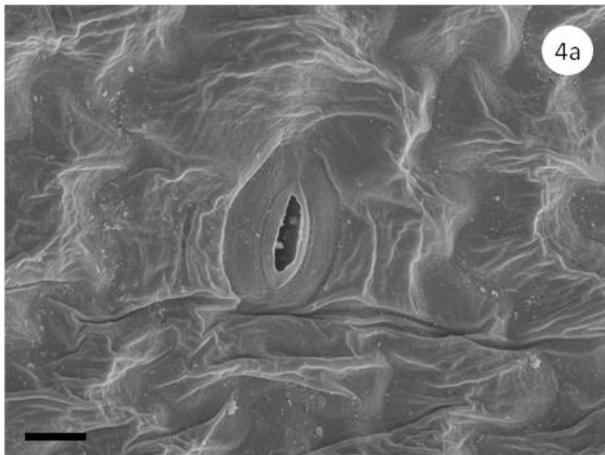


Figura 1.21 (Continuação) - Microscopia Eletrônica de Varredura dos estômatos diacíticos nos acessos de *Ocimum*. a- Face abaxial; b- Face adaxial. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). As barras indicam 10 μm .

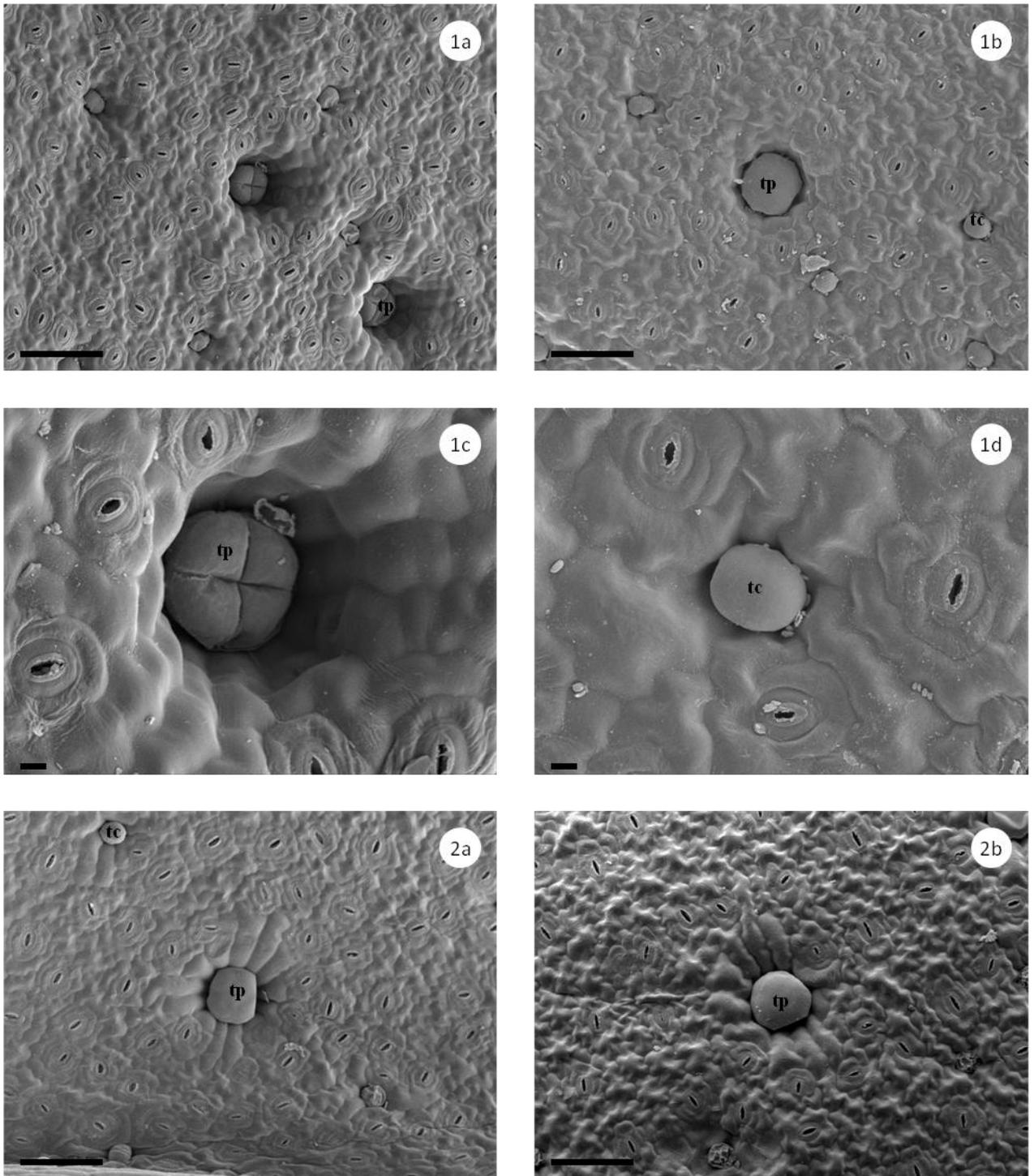


Figura 1.22- Microscopia Eletrônica de Varredura dos tricomas glandulares localizados na ala das lâminas foliares dos acessos de *Ocimum*. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). 1a, 1c, 2a, 2c, 3a, 3c, 3d, 4a, 5a, 5c, 5d e 5e representam tricomas da face abaxial; 1b, 1d, 2b, 2d, 3b, 3e, 3f, 4b, 4c, 4d, 4e e 5b representam os na face adaxial. As abreviações representam tt=tricoma tector, tc= tricoma glandular capitado e tp= tricoma glandular peltado. Barras grandes indicam 100µm e barras pequenas representam 10µm.

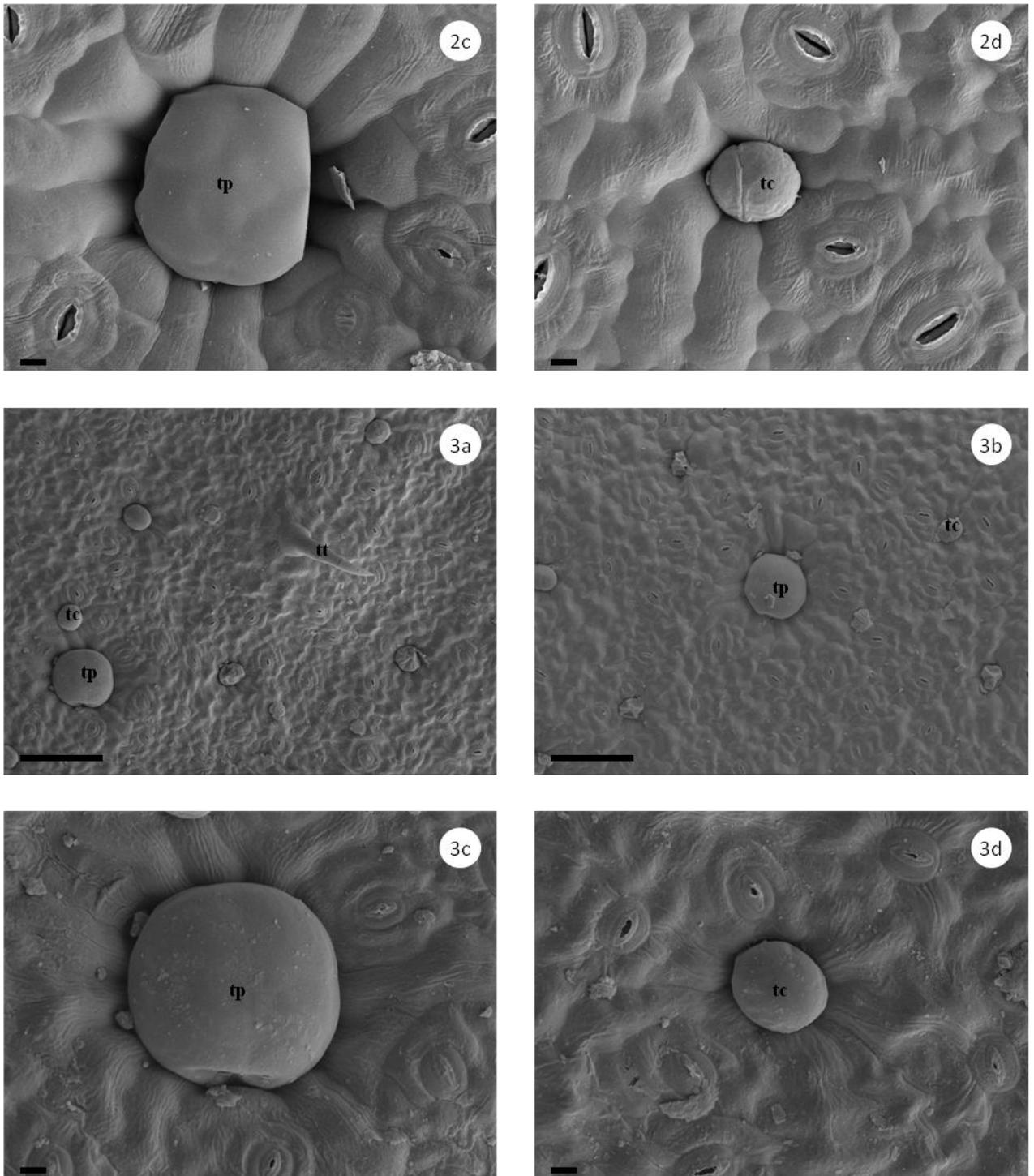


Figura 1.22 (Continuação)- Microscopia Eletrônica de Varredura dos tricomas glandulares localizados na ala das lâminas foliares dos acessos de *Ocimum*. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). 1a, 1c, 2a, 2c, 3a, 3c, 3d, 4a, 5a, 5c, 5d e 5e representam tricomas da face abaxial; 1b, 1d, 2b, 2d, 3b, 3e, 3f, 4b, 4c, 4d, 4e e 5b representam os na face adaxial. As abreviações representam tt=tricoma tector, tc= tricoma glandular capitado e tp= tricoma glandular peltado. Barras grandes indicam 100µm e barras pequenas representam 10µm.

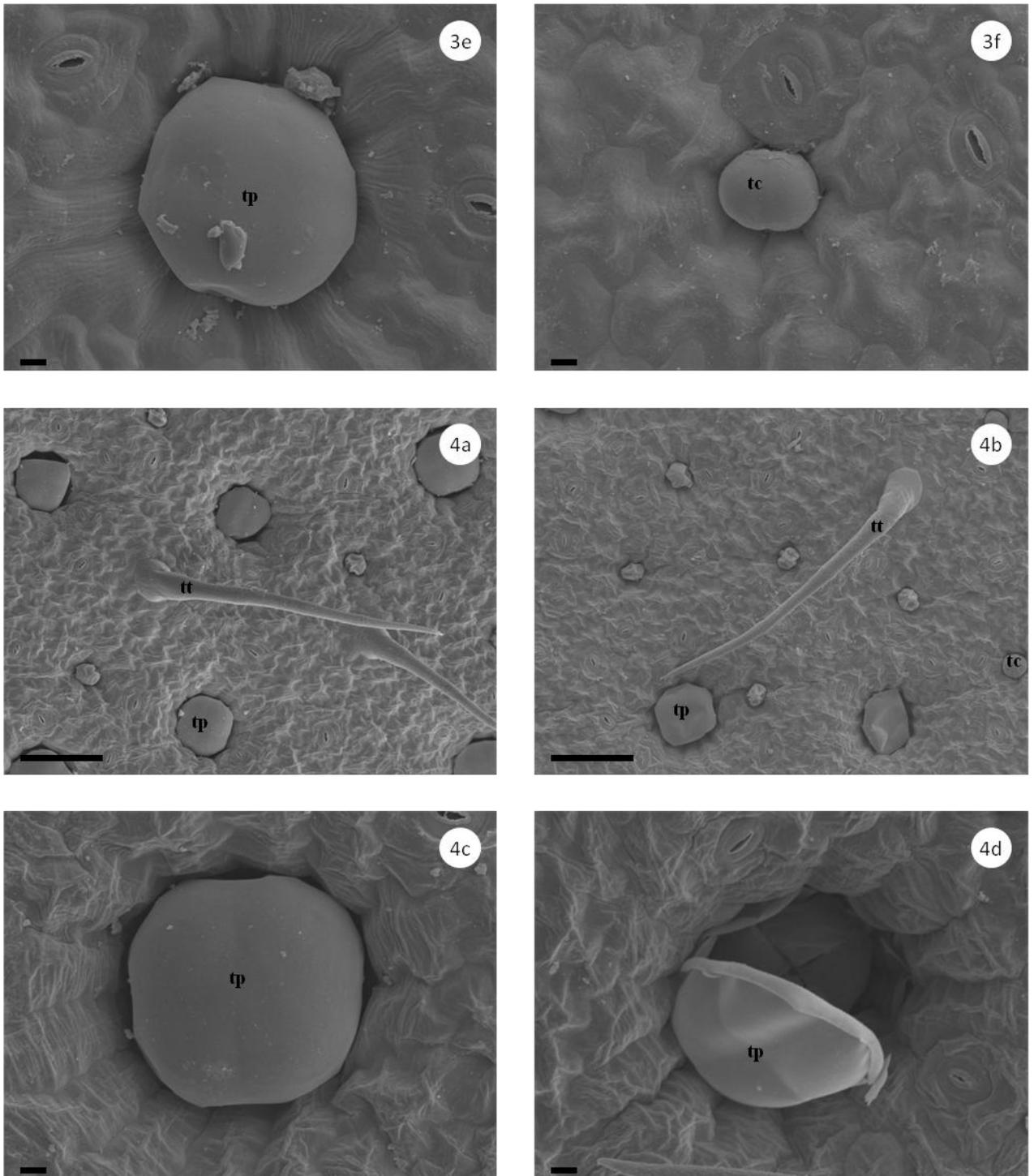


Figura 1.22 (Continuação)- Microscopia Eletrônica de Varredura dos tricomas glandulares localizados na ala das lâminas foliares dos acessos de *Ocimum*. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). 1a, 1c, 2a, 2c, 3a, 3c, 3d, 4a, 5a, 5c, 5d e 5e representam tricomas da face abaxial; 1b, 1d, 2b, 2d, 3b, 3e, 3f, 4b, 4c, 4d, 4e e 5b representam os na face adaxial. As abreviações representam tt=tricoma tector, tc= tricoma glandular capitado e tp= tricoma glandular peltado. Barras grandes indicam 100 μ m e barras pequenas representam 10 μ m.

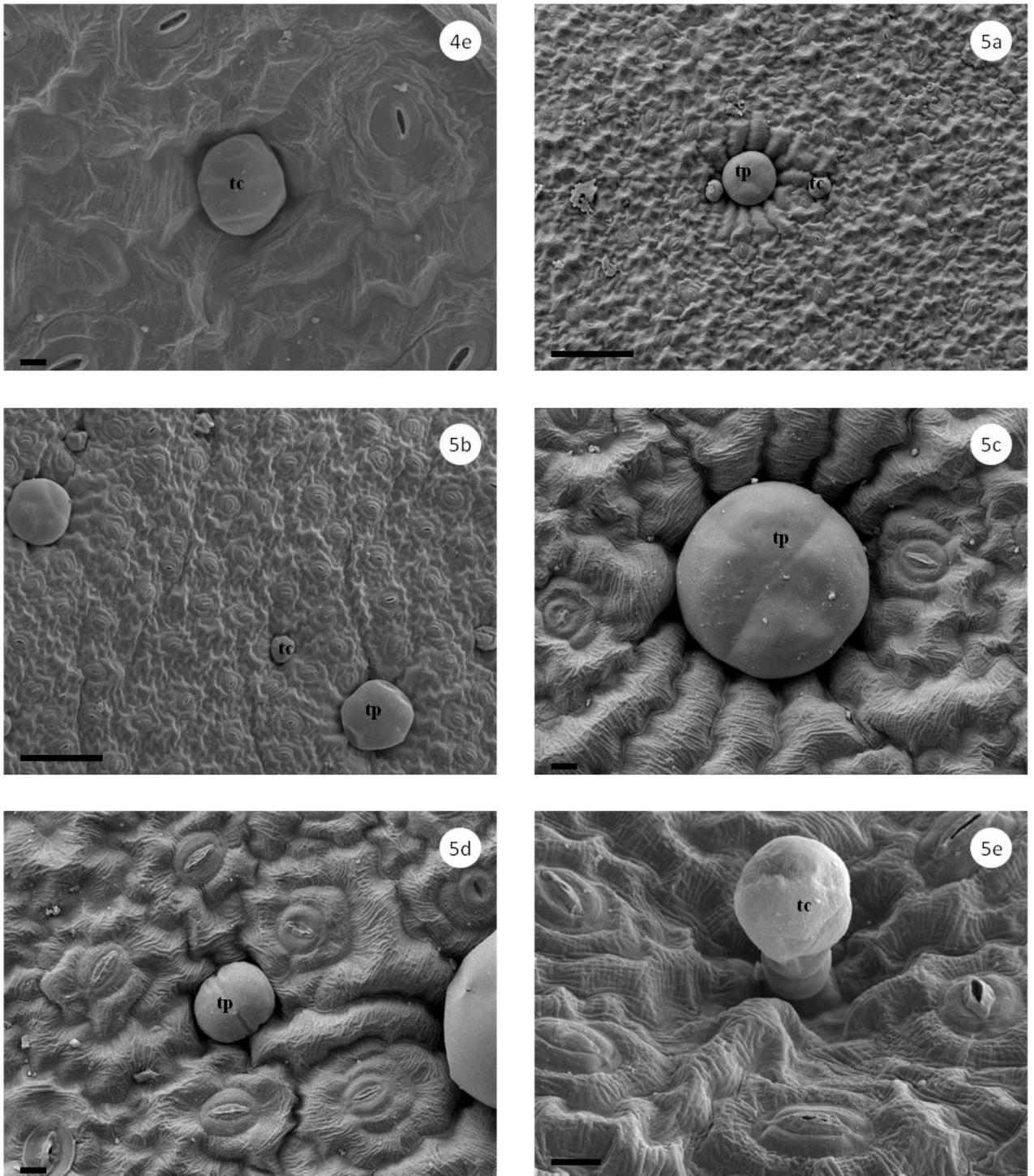


Figura 1.22 (Continuação)- Microscopia Eletrônica de Varredura dos tricomas glandulares localizados na ala das lâminas foliares dos acessos de *Ocimum*. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). 1a, 1c, 2a, 2c, 3a, 3c, 3d, 4a, 5a, 5c, 5d e 5e representam tricomas da face abaxial; 1b, 1d, 2b, 2d, 3b, 3e, 3f, 4b, 4c, 4d, 4e e 5b representam os na face adaxial. As abreviações representam tt=tricoma tector, tc= tricoma glandular capitado e tp= tricoma glandular peltado. Barras grandes indicam 100µm e barras pequenas representam 10µm.

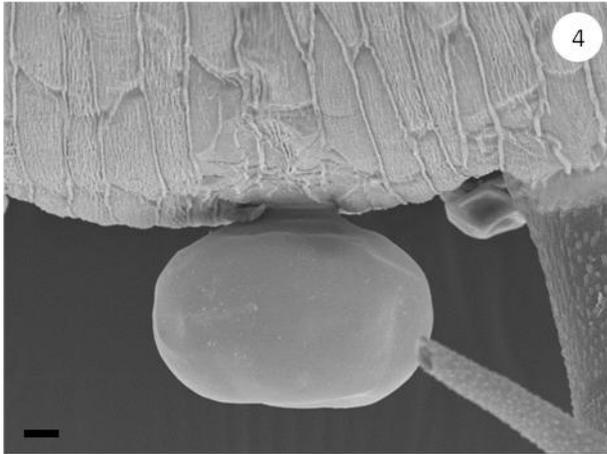


Figura 1.23 - Microscopia Eletrônica de Varredura de tricoma glandular observado no peciolo do acesso 4 (híbrido). A barra indica 10 μ m.

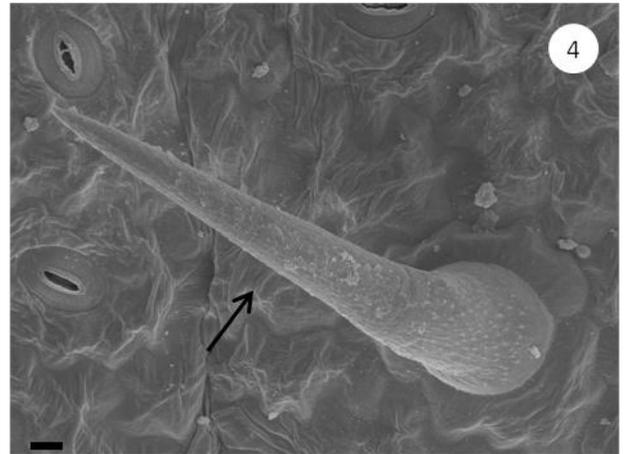
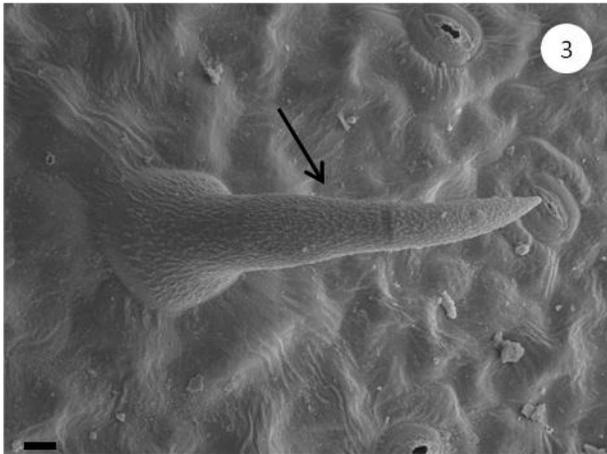


Figura 1.24 - Microscopia Eletrônica de Varredura dos tricomas tectores observados na ala da lâmina foliar dos acessos de *Ocimum* . Número 3 representa o acesso 3 (miúdo verde) e o numero 4 representa o acesso 4 (híbrido). As barras indicam 10 μ m.

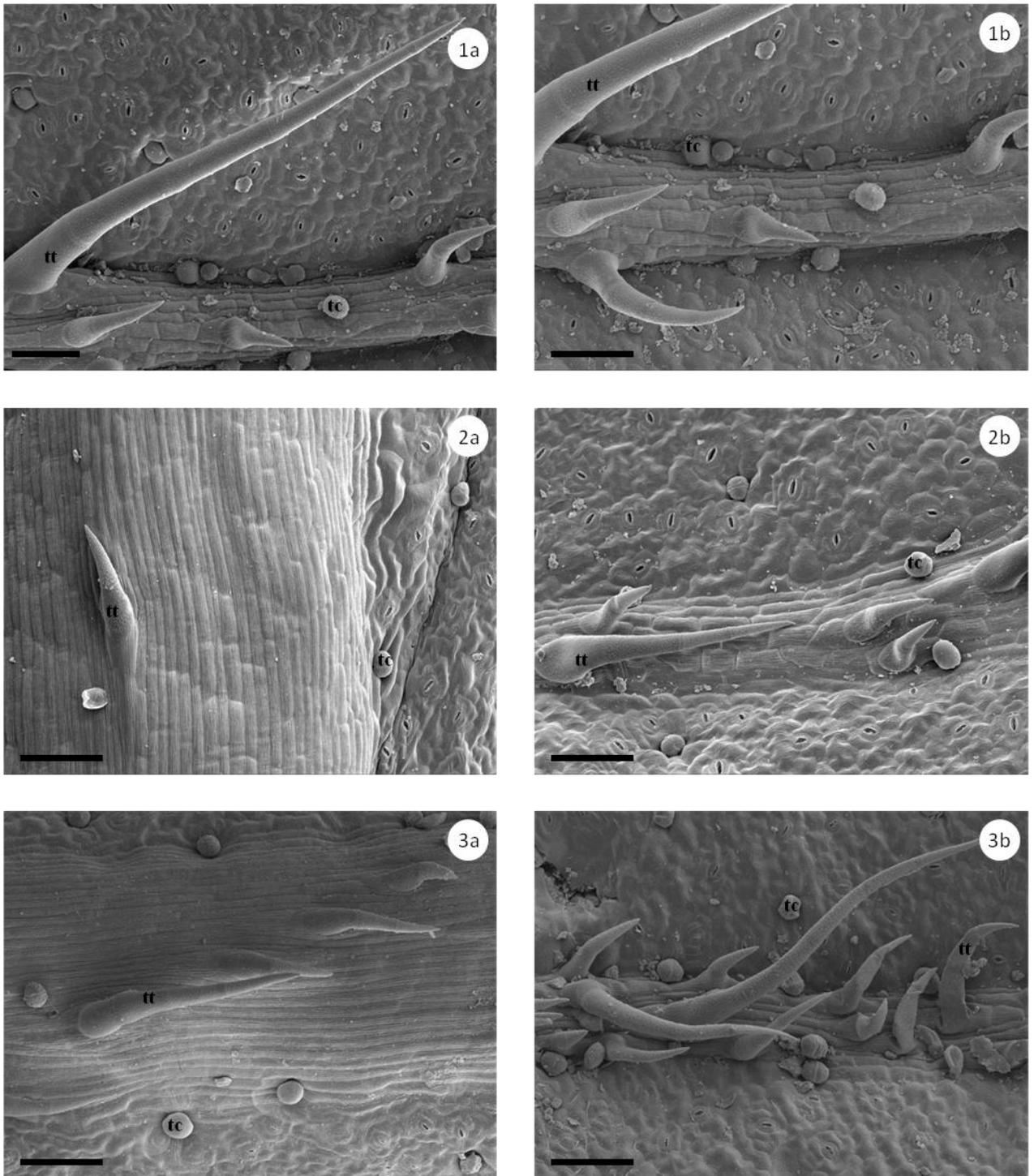


Figura 1.25 - Microscopia Eletrônica de Varredura dos tricomas encontrados na nervura central das acessos de *Ocimum* estudados. Nota-se tricomas pequenos, médios e grandes. a- Face abaxial; b- Face adaxial. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). As abreviações representam tt= tricoma tector, tc= tricoma glandular capitato e tp= tricoma glandular peltado. Barras grandes indicam 100 μ m e barras pequenas 10 μ m.

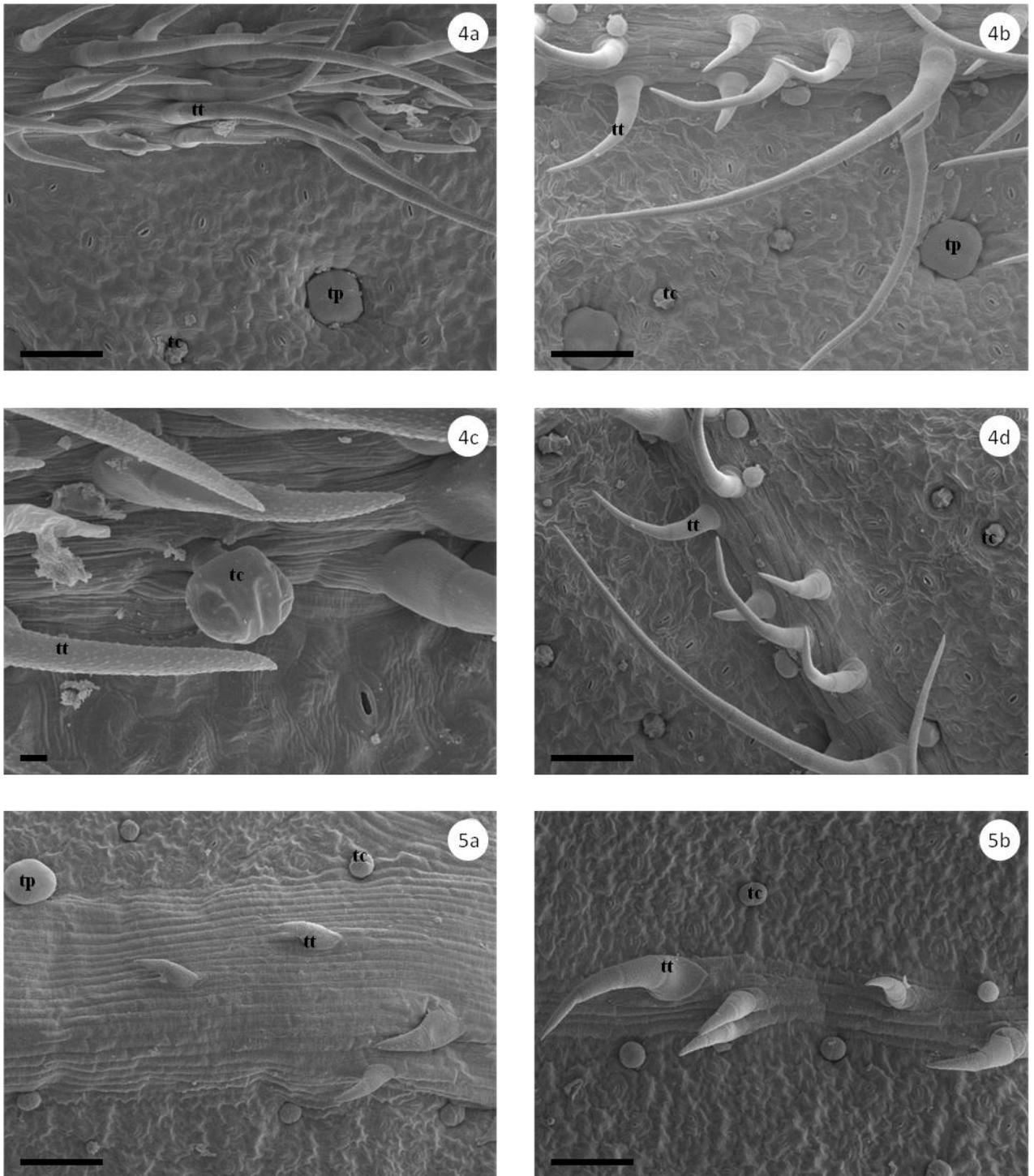


Figura 1.25 (Continuação) - Microscopia Eletrônica de Varredura dos tricomas encontrados na nervura central das acessos de *Ocimum* estudados. Nota-se tricomas pequenos, médios e grandes. a- Face abaxial; b- Face adaxial. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). As abreviações representam tt= tricoma tector, tc= tricoma glandular capitado e tp= tricoma glandular peltado. Barras grandes indicam 100µm e barras pequenas 10 µm.

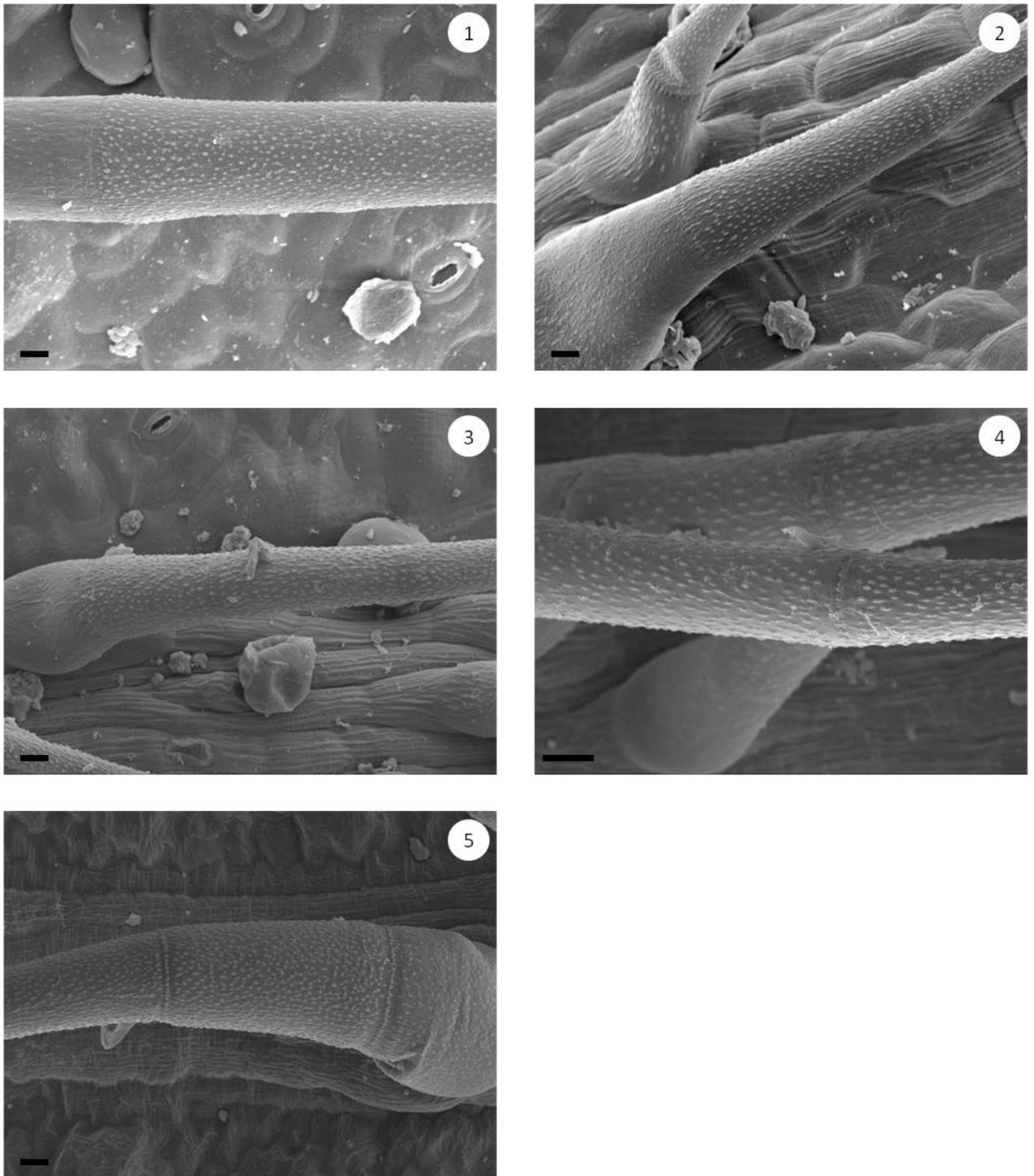


Figura 1.26 - Microscopia Eletrônica de Varredura da ornamentação na cutícula dos tricomas tectores encontrados nos acessos de *Ocimum* estudados. 1=acesso 1 (colunar roxo); 2= acesso 2 (tradicional); 3=acesso 3 (miúdo verde); 4=acesso 4 (híbrido) e 5 = acesso 5 (miúdo roxo). As barras representam 10 μ m.

CAPÍTULO II:

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SAZONALIDADE NO RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum basilicum*

RESUMO

O manjerição (*Ocimum basilicum*)   largamente utilizado na medicina popular e seu óleo essencial tem grande valor de mercado. No presente estudo, foi avaliada a influência da sazonalidade na umidade, rendimento e composição química do óleo essencial, teor de linalol, 1,8-cineol e eugenol e na quantidade em miligramas de linalol e 1,8-cineol de um acesso de *Ocimum basilicum*. O experimento foi realizado em campo e as coletas foram efetuadas nas estações chuvosa e seca. As extrações foram realizadas por hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado e as análises foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu, GC 17A. A identificação dos constituintes foi feita baseada nos espectros de massa obtidos em Agilent 5973N. O objetivo do presente estudo foi verificar a influência da sazonalidade no rendimento e composição química qualitativa e quantitativa do óleo essencial de um acesso de *Ocimum basilicum* cultivado no DF. Na época chuvosa foram encontrados os melhores resultados em produtividade de óleo essencial. Os três compostos majoritários encontrados no óleo essencial foram linalol, 1,8-cineol e eugenol. Houve efeito de época para o teor de umidade das plantas, o rendimento de óleo essencial, a percentagem relativa dos compostos majoritários e a quantidade em miligramas de linalol e de 1,8-cineol. Os resultados evidenciam que a época de colheita é um fator determinante para aumento de produtividade e obtenção de  leo essencial de melhor qualidade.

Palavras chave: manjeriço, rendimento,  leo essencial, linalol, 1,8-cineol, eugenol.

ABSTRACT

Basil (*Ocimum basilicum*) is widely used in folk medicine and its essential oil has great market value. In the present study, the seasonal influence on moisture, yield and composition of essential oil, content of linalool, 1,8-cineole and eugenol and the amount in milligrams of linalool and 1,8-cineole were evaluated in a *Ocimum basilicum* access. The experiment was conducted field conditions and samples were collected during the rainy (abr./2011) and dry (set./2011) season. The extractions were performed by hydrodistillation in a modified Clevenger apparatus and the analyzes were performed on Shimadzu GC 17A chromatograph. Identification of components was based on the mass spectra obtained in Agilent 5973N. The aim of this study was to investigate the influence of seasonality on yield and qualitative and quantitative chemical composition of essential oil of *Ocimum basilicum* access cultivated in DF. The best results in yield of essential oil were found in the rainy season. The three major compounds found in the essential oil were linalool, 1,8-cineole and eugenol. There was seasonal effect on moisture content of plants, essential oil yield, relative percentage of the major compounds and in the amount of linalool and 1,8-cineole in milligrams. The results show that the harvest time is a decisive factor for productivity and essential oil quality.

Key words: Basil, yield, essential oil, linalool, 1,8-cineole, eugenol.

INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são compostos aromáticos, voláteis, presente na maioria das especiarias conferindo características de sabor e aroma aos condimentos (FERREIRA, 1991).

A sua produção nas plantas está geralmente associada à presença de estruturas secretoras especializadas, tais como tricomas glandulares, ductos de óleos ou resinas que contêm grande variedade de terpenos, considerados os sítios primários de acúmulos desse material (FAHN, 1979).

Os óleos essenciais são quimicamente derivados de fenilpropanóides ou de terpenóides e produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas, que os utilizam para sua proteção e atração de polinizadores (NOGUEIRA et al., 2007).

O óleo essencial de manjeriço constitui a matéria-prima de maior valor agregado nos mercados nacional e internacional, e é obtido a partir de folhas e inflorescências das plantas do gênero *Ocimum* (SIMON et al., 1990; ECKELMANN, 2002; BLANK et al., 2004).

O manjeriço tipo europeu apresenta maior valor de mercado (SIMON et al., 1990) e os seus principais constituintes são o linalol e o metil chavicol (estragol) (FLEISHER, 1981; CHARLES E SIMON, 1990). O óleo essencial de manjeriço também apresenta propriedades inseticidas e repelentes (UMERIE et al., 1998). De acordo com Lawrence (1993) a produção mundial do óleo essencial de *Ocimum basilicum* foi de 43 toneladas, representando um valor de 2,8 milhões de dólares.

As espécies mais conhecidas do gênero *Ocimum* apresentam como constituintes majoritários em seu óleo essencial o metil chavicol, eugenol, linalol, 1,8-cineol (BARITAUX et al., 1992), cinamato de metila (PEREZ et al., 1995), geraniol (CHARLES & SIMON, 1990) e timol (NTEZURUBANZA et al., 1984).

A variabilidade na produção e teor de óleos essenciais é conhecida por ser afetada por fatores ambientais tais como luz, disponibilidade de nutrientes, estação do ano, período do dia, ciclo e parte da planta (MULLER-RIEBAU et al. 1997; PERRI et al. 1999; VESELA et al. 1999; CARVALHO-FILHO et al., 2006), como também por fatores genéticos (VIEIRA et al., 2001; SKOULA et al. 2000; TAVARES et al., 2005).

Suchorska & Osinska (2001) estudaram a morfologia, o desenvolvimento e a composição química do óleo essencial de cinco formas de *O. basilicum*. Os parâmetros analisados foram: altura, crescimento, marcha do florescimento, estrutura da inflorescência, produtividade e composição do óleo essencial e o valor sensorial. Houve diferença significativa para altura, tamanho e cor da folha, a quantidade de flores e a produtividade.

Num estudo sobre a composição química do óleo essencial de 24 amostras frescas e secas de *O. basilicum*, Chalchat et al. (1999) identificaram 53 componentes. Todas as amostras foram do tipo linalol com quatro subtipos: Linalol (60-70%) e eugenol (5-15%); linalol (<60%) e eugenol; linalol e metil eugenol ou linalol e metil chavicol. Os subtipos não foram afetados pela origem ou procedência do material.

Na Turquia, Ozcan & Chalchat (2002), analisaram a parte aérea de *O. basilicum* e *O. minimum*, identificando 49 componentes em *O. basilicum* e 41 em *O. minimum*, os quais corresponderam a 88,1% e 74,4% do óleo essencial, respectivamente. O óleo de *O. basilicum* continha 78,02% de metil eugenol, 6,17% de alfa cubebeno, 0,83% de nerol e 0,74% de γ -muuroleno como principais componentes. A composição de *O. minimum* acusou geranil acetato (64,48%), terpineno-4-ol (2,35%) e octen-3-il-acetato (0,72%). Também foi pesquisada a produção e a qualidade do óleo essencial de *O. minimum* cultivado em 3 datas de colheita. A produção de folhas frescas foi 1320 kg/ha. A maior quantidade de óleo essencial foi obtida na terceira data de colheita a partir de folhas secas. O

principal componente do óleo essencial foi cinamato de metila e não linalol.

Suh & Park (1999a) analisaram o óleo essencial de *O. basilicum* var. *purpurascens* e *O. minimum* cultivados hidroponicamente e revelaram que os principais componentes do óleo essencial dos dois tipos foram : linalol, metil chavicol, eugenol e cariofileno. *O. basilicum* produziu a maior quantidade de óleo e *O. minimum* a menor. Estudaram ainda o efeito da estação de plantio (primavera, verão e inverno) sobre a quantidade e a composição do óleo essencial, verificando que as plantas cultivadas no verão apresentavam maior concentração de óleo essencial, seguidas pelas da primavera. O óleo essencial produzido no verão, no entanto, continha mais linalol e eugenol. A quantidade total de óleo essencial foi variável. Os óleos essenciais produzidos no inverno contiveram mais sesquiterpenos enquanto os produzidos no verão contiveram menos.

Suh & Park (1999b), pesquisaram o efeito do suplemento de magnésio em 4 doses a *O. basilicum*, *O. basilicum* var. *purpurascens*, e *O. minimum* cultivados em hidroponia. O aumento da produção de óleo em geral foi diretamente proporcional ao suplemento de magnésio. A resposta em crescimento vegetal foi diferenciada entre as espécies. A concentração de eugenol decresceu com o aumento na suplementação de magnésio. O linalol em *O. basilicum* var. *purpurascens*, e *O. minimum* decresceu com o aumento na suplementação de magnésio. Em *O. basilicum* ocorreu o contrário.

Martins et al. (1999) analisaram o óleo essencial de 3 espécies tradicionalmente utilizadas como febrífugas e para doenças respiratórias, *O. canum*, *O. gratissimum* e *O. minimum* cultivados em São Tomé, República Democrática de São Tomé e Príncipe, e concluíram que o principal componente de *O. gratissimum* foi o timol (48,1%), e o p- cimeno (12,5%). O principal componente de *O. canum* foi o trans metil cinamato (79,7%), enquanto o principal componente em *O. minimum* foi o

linalol (52,7%), diferentemente do resultado encontrado por Tansi & Nacar (1999) para *O. minimum*.

No Brasil, *Ocimum basilicum* também ocorre em muitos locais sob diferentes formas, variedades e quimiotipos com marcada variação na composição do óleo essencial. Em uma análise de *O. basilicum*, *O. basilicum var. minimum* e *O. basilicum var. purpurascens* cultivados no Nordeste do País mostraram que *O. basilicum var. minimum* representa o tipo estragol enquanto as outras duas espécies representam o tipo linalol. (VASCONCELOS et al. 2003).

Em Brasília, Sanson (2009) analisou cinco acessos de *Ocimum basilicum* e um híbrido de *O. americanum* coletados em feiras e supermercados de Brasília, DF e de Salvador, BA e observou grande variação tanto nas características morfológicas quanto no perfil de aromáticos. Foram determinados cinco quimiotipos: linalol/cineol; metil chavicol/cineol; linalol/cineol/cânfora; metil chavicol, metil chavicol/linalol.

Quando se realizaram cruzamentos entre variedades e acessos de *O. basilicum*, relativos ao perfil de aromáticos de formas intermediárias, verificou-se que formas intermediárias diferiam dos parentais não apenas na morfologia mas quanto ao perfil de aromáticos (PUTIEVSKY et al, 1999).

Segundo Farias (1999), localização geográfica, época da coleta, forma de cultivo, condições climáticas, idade do material vegetal, período e condições de armazenamento podem influenciar o rendimento em extrato e o perfil químico de óleos essenciais/extratos de plantas.

Gupta (1994) observou que os manjericões representam um repositório de um grande número de compostos aromáticos em seu óleo tais como: metil chavicol, eugenol, metil eugenol, citral, linalol, geraniol, timol, metil cinamato, farnesol, elimicina, neroloidol, borneol, safrol, entre outros, que tem grande demanda em indústrias de fármacos, alimentos, flavolizantes e perfumes.

Os compostos encontrados em maior quantidade nos acessos de *Ocimum basilicum* são descritos a seguir:

➤ 1,8 cineol

O 1,8 cineol, cuja estrutura química está representada na figura 2.1, também conhecido como eucaliptol, é formado a partir do alfa-terpineol (MURRAY E LINCOLN, 1970). É um líquido incolor, com odor semelhante à cânfora, praticamente insolúvel em água, miscível em álcool, clorofórmio, éter e óleo fixo (MATOS, et al., 2004).

Ao ser emitido pelas flores serve como atrativo para polinizadores, incluindo abelhas, mariposas e morcegos (CROTEAU, et al., 2000).

Ainda possui diversas aplicações terapêuticas, é usado no tratamento de reumatismo, tosse e asma brônquica. Possui efeito germicida útil na pediculose, apresenta atividade relaxante da musculatura lisa do intestino e das vias respiratórias (SANTOS, et al., 2005).

Os níveis de 1,8 cineol dentro da planta aumentam com o aumento da intensidade da luz (OZEL E OZGUVEN, 2002).

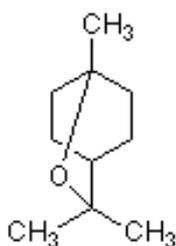


Figura 2.1 – Estrutura química de 1,8 cineol.

➤ Linalol

O linalol é um monoterpene (figura 2.2) referido como um componente predominante nos óleos essenciais em várias espécies de plantas aromáticas (CROTEAU, et al., 2000). É um importante componente químico aromático, largamente usado como fixador de fragrâncias na indústria cosmética mundial (GARLET, 2007), sendo

encontrado em aproximadamente 80% dos compostos processados nas indústrias de cosméticos. É um composto muito estável e também utilizado como intermediário químico de vitamina E.

Em estudo realizado em ratos, o Linalol apresentou efeito inibitório sobre a ligação de glutamato no córtex cerebral, apresentando efeitos sedativos e anticonvulsivos (ELISABETSKY et al., 1995)

Também é usado como inseticida e repelente (UMERIE et al. 1998), não apresentando toxicidade para humanos. O Linalol, ao ser emitido pelas flores serve como atrativo para polinizadores (CROTEAU, et al., 2000).

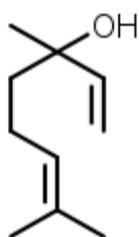


Figura 2.2 – Estrutura química de linalol.

➤ Eugenol

Segundo Escobar (2002), uma das propriedades atribuídas ao eugenol é o alívio da dor de origem dentária. É componente de seladores e outros produtos de higiene bucal e tem efeito bactericida comprovado. Trata-se de um bloqueador da condução nervosa que, em baixas concentrações, é capaz de reduzir a transmissão sináptica neuromuscular. Vários estudos concluíram que o eugenol inibe a ciclooxigenase, inibindo a síntese das prostaglandinas e favorecendo o efeito analgésico e anestésico.

Baixas concentrações de eugenol inibem a atividade nervosa de modo reversível, atuando como um anestésico local. No entanto, a exposição a altas concentrações (10^{-2} a 10^{-3} mol/l) de eugenol bloqueia irreversivelmente a condução nervosa indicando um efeito neurotóxico (ESCOBAR, 2002). Trabalhos na literatura apontam que o eugenol também tem propriedades antissépticas, de

estimulante cardíaco, circulatório, digestivo, respiratório e antiespasmódico, nematocida, antiviral, bactericida e fungicida. A estrutura química do eugenol é apresentada na figura 2.3.

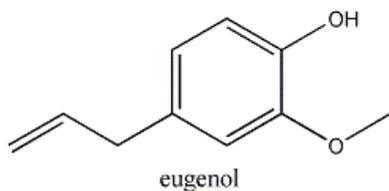


Figura 2.3– Estrutura química de eugenol.

Blank et al. (2004) em Sergipe caracterizaram morfológica e agronomicamente acessos de *Ocimum* spp. visando a seleção de genótipos com alto rendimento de óleo essencial rico em linalol.

Labra et al (2004) verificaram a possibilidade de uso de marcadores moleculares polimorfismo de DNA com base na análise ALFP para esclarecer divergências de classificações. Concluíram que a análise combinada de características morfológicas, a composição do óleo essencial e os marcadores moleculares representam progresso para conferir a taxonomia e correlacionar com as características agrônômicas. Ao analisarem a morfologia, a genética e a composição do óleo essencial de nove acessos de *Ocimum basilicum* culinário, os autores verificaram a existência de vários tipos morfológicos e químicos. Com relação à morfologia distinguiram-se folhas de tamanho médio, pequeno e grande e quanto ao formato das folhas distinguiram-se: ovado e lanceolado. No bordo do limbo foliar distinguiram-se: serrado e inteiro. Quanto à cor foram observadas: verde e verde-claro. Todas as flores foram brancas. O parâmetro altura variou de 20 a 45 cm com médias de 22,5 a 42,5 cm.

Tesi et al. (1991) compararam formas contrastantes de manjeriço para fabricação do molho pesto: o europeu cultivar “Genovese”, o “Folha de Alface” e o “Nano” (ou “Compacto”). Observaram um bom crescimento no “Genovese” (tipo linalol) com

sua resistência à murcha de *Fusarium*. Verificaram ainda que o “Folha de Alface” era do quimiotipo metil chavicol.

Trabalhando com acessos semelhantes aos de Tesi et al. (1991) e visando a obtenção de novas linhagens de manjeriço que combinassem o aroma típico do “Genovese” com o aumento do tamanho da folha e qualidade agrônômica, Elementi et al. (2006) observaram 200 progênies derivadas de cruzamentos de “Genovese” com “Folha de Alface Compacto”. Ao serem quimicamente analisadas, as progênies apresentaram como componentes mais relevantes o linalol (16-62%), eugenol (4-40%), 1.8-cineol (1-17%) e metil chavicol (0-37%). O sabor de menta característico do “Compacto” não é apreciado na Itália. Assim, sua ausência nas progênies foi considerada um ganho.

Gupta (1996) relacionou o quimiotipo de espécies de *Ocimum* às características morfológicas das espécies e variedades e à fenofase da planta.

Após relatos acerca da toxicidade do manjeriço *Ocimum basilicum*, os quais fizeram surgir interesse e necessidade de melhor compreensão sobre as características agrônômicas e a composição química de diversos acessos botânicos cultivados na Itália, Macchia et al. (2006) investigaram as características morfológicas e a composição química de dez genótipos. Os resultados mostraram muitas diferenças entre genótipos: quatro foram identificados com base no hábito, ciclo de vida e altura da planta.

Verma et al. (2012) ao avaliarem 2 cultivares de *Ocimum basilicum* em região de clima sub temperado observaram maior produtividade no florescimento e durante a estação primavera/verão.

Martins (2006) estudando *Ocimum gratissimum* observou que os teores percentuais de óleo essencial variaram em função da intensidade e qualidade de luz no ambiente de cultivo.

Ao avaliar o efeito do estágio de desenvolvimento na colheita na composição e rendimento do óleo essencial de orégano e

tomilho, Christensen e Grevsen (2006) não observaram alterações no perfil qualitativo dos óleos essenciais das espécies analisadas durante os diferentes estádios de desenvolvimento estudados. As alterações encontradas foram relacionadas à concentração dos componentes majoritários que foi maior no estágio de florescimento.

Maia et al. (2007) ao analisar quimicamente 2 acessos de *Ocimum selloi* provenientes de flores e folhas, observaram que o principal constituinte do primeiro acesso foi o estragol e no segundo, metil eugenol. Germacreno B foi o segundo componente em maior concentração nos óleos dos dois acessos.

Grayer et al. (1996) identificaram a composição dos óleos essenciais de 16 acessos de *Ocimum basilicum* e um de *Ocimum citriodorum* utilizando folhas frescas e secas. O perfil químico obtido se manteve constante, em geral, utilizando folhas frescas e secas, apesar da concentração, nas folhas secas, de metil chavicol e eugenol apresentaram declínio em comparação com o linalol. Os compostos majoritários encontrados foram linalol, metil chavicol, eugenol, metil eugenol e geraniol.

Marotti et al. (1996) observaram que a maioria dos compostos de *O. basilicum* eram monoterpenos. Todos os cultivares estudados apresentaram altas concentrações de linalol seguido por 1,8-cineol, τ -cadinol e α -trans-bergamoteno.

Ao caracterizarem o padrão de compostos voláteis e capacidade antioxidante de óleos essenciais de diferentes espécies de *Ocimum*, Trevisan et al. (2006) encontraram como componentes majoritários eugenol, trans- β -cariofileno, 1,8-cineol, linalol e α -muurolol.

Fernandes et al. (2004) avaliando *O. minimum* e *O. basilicum* utilizando diferentes sistemas de cultivo: hidroponia, substrato comercial e substrato preparado, verificaram que o tipo de cultivo não influenciou no rendimento dos óleos essenciais.

Em várias espécies, a composição do óleo essencial pode ser afetada por diferentes fatores, entre eles: alterações fisiológicas,

condições ambientais, variações geográficas, fatores edáficos e fatores genéticos e evolução. Outro fator de importância determinante que afeta a composição e teor de óleo essencial é a época do ano, assim, o tempo correto de colheita é de importância fundamental dos pontos de vista agrônomico e econômicos (FIGUEIREDO et al. 2008).

As estruturas especializadas responsáveis pela biossíntese e armazenamento de óleos essenciais nas espécies da família Lamiaceae são os tricomas glandulares, que não são, necessariamente, as mesmas observadas em outras famílias, o que, juntamente com fatores genéticos das espécies, pode explicar a grande variação que se nota no comportamento de diferentes espécies e famílias em relação à época de maior síntese de óleo e liberação do mesmo.

O Manjeriço Colunar Roxo é largamente cultivado, sendo facilmente encontrado nos mercados e feiras da região do DF. Sua multiplicação ocorre por estaquia, já que nas condições climáticas da região, não floresce. Quando cultivado em condições de campo, a radiação solar promove o arroxamento do talo e nervuras, daí o nome de Colunar Roxo.

OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi verificar a influência da sazonalidade no rendimento e composição química qualitativa e quantitativa do óleo essencial de um acesso de *Ocimum basilicum* comercializado em supermercados do DF.

MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos deste segmento foram realizados na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, localizada no Parque Estação Biológica W5 Norte Final-Brasília/DF, a 15° 48' Latitude Sul e 47° 53' Longitude Oeste, a 1.000 metros de altitude e na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen).

Um acesso de Manjeriçãõ Colunar Roxo advindo de um supermercado em Brasília, DF e incorporado à coleção de plantas medicinais da Universidade de Brasília foi multiplicado por estaquia e cultivado em vasos com volume de 4 litros. O substrato utilizado foi a mistura EEB: (latossolo vermelho de cerrado textura média+ areia+composto orgânico+ vermiculita). Os itens da mistura apresentaram a seguinte proporção: 3:1:1:1. Para cada 40 litros da mistura foram incorporados 100 g de NPK na formulação 4-16-8.

Após atingirem altura de aproximadamente 30 centímetros, as mudas foram transplantadas para o campo.

As plantas foram cultivadas no campo (Figura 2.4), em sulcos, no espaçamento de 80 x 50 cm, no período de setembro de 2010 a novembro de 2011. Para cada metro de sulco foram utilizadas 100 gramas de NPK na formulação 4-14-8 e 3 litros de composto orgânico.

A adubação de manutenção foi realizada colocando-se 50 gramas de NPK na formulação 10-10-10 por planta a cada três meses.

Em dois períodos, final da estação chuvosa (13 de abril de 2011) e final da estação seca (30 de setembro de 2011), foram feitos os cortes das plantas para avaliação da produção de óleo essencial e sua composição. As amostras foram coletadas sempre no período da manhã. Os dados climatológicos durante a execução do experimento são demonstrados na Tabela 2.1.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos: estação seca e chuvosa. Foram realizadas dez repetições com três subamostras cada.

Tabela 2.1: Dados climatológicos mensais de Brasília, Distrito Federal, no período de outubro de 2010 a outubro de 2011, coletados na estação meteorológica Brasília, cód. 83377.

Ano	Mês	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Temperatura Média (°C)	Precipitação Acumulada (mm)	Umidade Relativa Média (%)
2010	Outubro	33,2	16,8	24,04	189,9	64,32
2010	Novembro	29,8	14,9	21,9	254,5	76,4
2010	Dezembro	30,1	15	22,7	318	75,74
2011	Janeiro	30,3	17	22,5	126,8	72,9
2011	Fevereiro	30,4	17,1	22,95	172,4	72,37
2011	Março	28,8	16,8	22,52	243,2	77,14
2011	Abril	29,2	14,6	22,23	69,5	67,51
2011	Maió	28,1	12,4	20,61	13,9	59,74
2011	Junho	27,8	11,1	19,93	3,8	57,07
2011	Julho	28,9	11,4	20,06	0	46,88
2011	Agosto	33	12,2	22,46	0	33,2
2011	Setembro	33,4	13,5	23,51	7	31,62
2011	Outubro	31,2	13,7	21,75	263,9	75,54

Fonte: Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa, INMET.

As plantas foram pesadas inteiras e em seguida, as folhas e talos foram pesados separadamente para determinação da porcentagem de folhas na planta. As folhas coletadas foram dispostas em estufa de ar circulante a 38°C, por uma semana, para a posterior extração do óleo (Figura 2.5).

O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelhos de Clevenger modificados onde foram colocadas cerca de 50g de folhas em balões de 2L, com 1,5 litro de água destilada, por setenta e cinco minutos, após o início da destilação (Figuras 2.6 e 2.7).

Para avaliação quantitativa da composição do óleo essencial, foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu GC 17A com auto-injetor AOC-20i, em coluna capilar HP-5 (25 m x 0,32 mm x 0,25 µm), com temperatura de forno variando de 60 a 240°C a 3°C min⁻¹ e utilizando o hidrogênio como gás carreador (1,4 mL min⁻¹). Foram injetados 100 µl de óleo puro diluídos em 1,5 mL de diclorometano no modo com divisão de fluxo (1:100; injetor a 250°C). A identificação e quantificação dos constituintes majoritários e as curvas de calibração foram obtidos com padrões de 1,8 cineol, linalol e eugenol (Sigma Aldrich).

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi baseada nos espectros de massa obtidos em um Agilent 5973N que opera por impacto de elétrons (EIMS) a 70 eV, acoplado a um cromatógrafo Agilent 6890 com uma coluna HP-5 MS (30m X 0,25mm X 0,25 μ m), usando o mesmo procedimento de injeção e programa de temperatura como descrito para a cromatografia gasosa. O hélio foi o gás carreador a 1,0 ml/min. A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi baseada nos espectros de massa obtidos em comparação com os dados da biblioteca Wiley 6th ed.; seus índices de retenção calculados (IR) foram comparados com dados de Adams (1995); e os Índices de Kovats (IK) foram obtidos a partir da cromatografia gasosa pela interpolação logarítmica da série homóloga de n-alcanos como padrões.

A avaliação dos compostos majoritários foi processada de duas formas, a primeira através dos dados de percentagem relativa de cada composto (para linalol, 1, 8 cineol, e eugenol), e a segunda, em valores quantificados em miligramas de cada composto (linalol e 1,8-cineol), por meio de curva de calibração.

Para o cálculo da quantidade, em miligramas, de 1,8-cineol e linalol nas amostras de óleo essencial, foi realizada a cromatografia dos compostos puros como padrões. As amostras dos padrões foram diluídas nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100%, pesadas e injetadas no cromatógrafo. Os valores da área dos picos de cada composto obtidos no cromatograma foram utilizados para a obtenção de uma curva de calibração através da regressão linear para cada padrão. A partir da curva de regressão foi gerada uma equação, que permitiu a relação entre a área do gráfico obtido pelo cromatograma e a quantidade, em miligramas, de 1,8-cineol e linalol nas amostras de óleo essencial.

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada utilizando-se o teste Scott-Knott por meio do *software* SISVAR 5.3.



Figura 2.4- Mudas de Manjerição Colunar Roxo sendo transplantadas para campo com os sulcos de plantio previamente adubados.



Figura 2.5: Estufa de ar circulante com o material vegetal acondicionado em sacos de papel furados para permitir correta secagem.



Figuras 2.6 e 2.7: Destilação das folhas nos *Clevengers* modificados e amostras coletadas e acondicionadas em *vials* para posterior análise cromatográfica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no ensaio de produção de matéria fresca e rendimento de óleo essencial indicam maior quantidade de óleo produzida na estação chuvosa, que permitiu melhor desenvolvimento da planta e conseqüente maior produção de matéria para extração de óleo. Os valores obtidos neste ensaio estão expostos na Tabela 2.2 e 2.3.

Tabela 2.2- Produção de matéria fresca e rendimento de óleo essencial do acesso Manjerição Colunar Roxo (*Ocimum basilicum* L.). Valores em gramas de MFT: massa fresca total; MST: massa seca total; MFS: massa de folhas secas.

	MFT (g)	MST (g)	MFS (g)	Óleo %
Tratamento	Média			
Chuva	1035,91 A	224,456 A	89,285 A	1,607 a*
Seca	543,482 B	107,135B	56,119 B	1,238 b

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

O rendimento (p/p) de óleo essencial foi influenciado pela época de colheita. O teor encontrado nas folhas secas (Tabela 2.3) foi maior na estação chuvosa, apresentando diferença significativa ao nível de probabilidade de 5%.

Tabela 2.3- Rendimento do óleo essencial de *Ocimum basilicum* cultivado no Distrito Federal nas duas épocas coletadas: estação chuvosa, abril de 2011.; estação seca, setembro de 2011.

Rendimento de óleo	
Tratamento	Média
Chuva	1,607 a*
Seca	1,238 b

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Vários autores estudando espécies da mesma família também observaram resposta positiva em relação ao teor de óleo com o aumento na umidade e temperatura, observando que à medida que a temperatura e a umidade relativa se elevam, há um aumento no rendimento de óleo essencial (DESCHAMPS et al., 2008), (BOTREL et al., 2010).

Silva et al. (2003) observaram que o teor de óleo essencial em *Ocimum basilicum* foi afetado conjuntamente pela época e horário de colheita. As plantas colhidas na época com maiores temperaturas e precipitação obtiveram rendimento 170% maior.

Chaves (2002), ao estudar *Ocimum gratissimum*, observou que o rendimento de óleo essencial oriundo das folhas foi maior que o advindo de inflorescências, notou ainda que no inverno o rendimento do óleo foi menor que no verão, constatando que o aumento na temperatura e na umidade relativa acarretam em aumento no rendimento de óleo essencial.

Martins et al. (2006) avaliando a composição do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* em dois fotoperíodos, duas épocas de corte (após 60 e 135 do plantio) e com e sem adubação, obtiveram diferenças quantitativas e qualitativas na composição do óleo essencial. Os maiores teores foram encontrados nas plantas com deficiência nutricional e colhidas após 135 dias do plantio.

Diferente do que foi encontrado neste trabalho, Carneiro et al.(2010) estudando o óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* concluiu que nos meses de menor precipitação pluviométrica obteve-se maior rendimento de óleo essencial e nos meses com maior precipitação os dados mostraram tendência a baixos rendimentos. Tal fato pode estar correlacionado com a fisiologia da espécie estudada, que apresenta maior teor de água em suas estruturas, fazendo com que na estação seca devido ao balanço hídrico da planta, a concentração de óleo seja maior. Também se pode inferir que na presença de excesso de água há menor produção de óleo essencial.

Ao avaliarem o teor do óleo essencial de *Lippia Alba* nas estações seca e chuvosa no Ceará, Santos e Innecco (2003), observaram resultados contrastantes com os obtidos no presente estudo, sendo que os maiores teores de óleo essencial foram na estação seca, que apresentou aumento na temperatura e intensidade luminosa, fatores que podem influenciar as taxas de fotossíntese, respiração e produção de metabólitos secundários.

Outros autores também obtiveram resultados contrastantes ao estudarem espécies da mesma família, observando maiores rendimentos de óleo essencial em épocas com maiores temperatura e menor umidade relativa (BARROS et al., 2009) e em condições de maior estresse com menores temperaturas e menor precipitação pluviométrica (CHAGAS et al., 2011).

Durante o período do experimento não foram observadas grandes variações na temperatura, sendo que os fatores climáticos que apresentaram maiores variações e provavelmente tiveram seus efeitos refletidos nas respostas das plantas foram a umidade relativa e a precipitação (Tabela 2.1). Outro fator importante a ser ressaltado é que o presente estudo foi realizado em uma região geográfica com condições climáticas diferentes dos estudos apresentados por Carneiro et al., 2010 e Barros et al., 2009, com períodos secos e chuvosos bem pronunciados.

Estudando *Cymbopogon winterianus*, Blank et al. (2007) observou que a produção de óleo essencial durante o inverno, com baixas temperaturas e alta umidade relativa, foi menor e ainda notou que a composição química foi afetada pela estação e processo de secagem. Tal diferença pode ser explicada por fatores genéticos de estruturais da planta estudada, pois possivelmente apresenta estruturas diferentes de biossíntese e armazenamento de óleos.

As divergências em função da sazonalidade indicam que o teor do óleo é bastante variável entre as espécies de plantas medicinais e aromáticas, mesmo quando cultivadas sob ambiente semelhante (BOTREL et al., 2010).

A redução dos teores de óleo essencial, principalmente no inverno e outono, pode ser explicada pelo acionamento do mecanismo natural de fonte-dreno, que degrada metabólitos secundários e direciona seus compostos químicos para a manutenção do metabolismo primário (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A composição química do óleo essencial do acesso estudado, Manjeriço Colunar Roxo é apresentada na Tabela 2.4. Foram

identificados 22 componentes químicos que representam 97,17% do óleo essencial. Em uma comparação de médias das duas épocas foram considerados componentes majoritários das amostras os que apresentaram concentração superior a 1% em pelo menos uma repetição, destacando-se 1,8-cineol (com 10,91%), linalol (64,24%) e eugenol (9,39%), corroborando com o resultado obtido por Sanson (2009), que estudando o mesmo acesso o classificou como pertencente ao quimiotipo linalol/cineol.

Tabela 2.4 - Constituintes químicos do óleo essencial de manjeriçao (*Ocimum basilicum* L.) cultivado no Distrito Federal, identificados por CG/MS e CG/FID.

#	Constituintes Químicos	Tempo de Retenção	IK Calc.	IK Lit.	% relativa do óleo essencial
1	α -pineno	4,825	936	939	0,384
2	sabineno	5,754	975	975	0,477
3	β -pineno	5,847	978	979	1,008
4	mirreno	6,183	991	988	0,672
5	limoneno	7,286	1030	1029	0,417
6	1,8-cineol	7,369	1032	1031	10,906
7	trans- β -ocimeno	7,889	1049	1050	0,534
8	terpinoleno	9,241	1088	1088	0,178
9	linalol	9,732	1101	1096	64,241
10	canfora	11,251	1144	1146	0,316
11	α -terpineol	13,023	1188	1188	1,011
12	eugenol	19,727	1356	1359	9,392
13	β -elemeno	21,077	1388	1390	0,466
14	trans-cariofileno	22,09	1413	1419	0,59
15	trans- α -bergamoteno	22,801	1432	1434	0,168
16	α -guaiano	22,886	1435	1439	0,298
17	α -humuleno	23,693	1456	1454	0,515
18	germacreno-D	24,496	1476	1485	1,193
19	biciclogermacreno	25,097	1490	1500	0,629
20	δ -guaiano	25,476	1499		0,504
21	γ -cadineno	25,777	1508	1513	0,957
22	cadinol <epi- α >	30,473	1634	1640	2,312

IK_{Calc.} = Index de Kovats Calculado; IK_{Lit.} = Index de Kovats na Literatura.

O perfil químico dos 10 compostos majoritários (>1,0%) do óleo essencial se manteve constante nas duas épocas de coleta.

(Tabela 2.5) Isto evidencia que as condições climáticas não promoveram alteração qualitativa na composição química do manjeriço, mantendo suas características organolépticas.

Tabela 2.5 - Compostos majoritários do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. cultivado no Distrito Federal identificados após as duas coletas: estação chuvosa(abril de 2011) e estação seca (setembro de 2011).

Tratamento	Chuva	Seca
Constituinte Químico	Conc. Média (%)	
β - pineno	1,03	1,64
mirreno	0,76	1,18
1,8-cineol	11,76	16,04
linalol	61,87	57,76
α -terpineol	1,11	1,57
eugenol	9,12	3,30
trans-cariofileno	0,93	1,38
germacreno-D	1,34	0,80
g-cadineno	1,10	1,74
cadinol <epi- α >	2,57	3,68

Dentre os compostos listado na Tabela 2.5, linalol, 1,8-cineol e eugenol são os compostos presentes em maior concentração, sendo responsáveis por cerca de 85% da composição total do óleo essencial (figura 2.8).

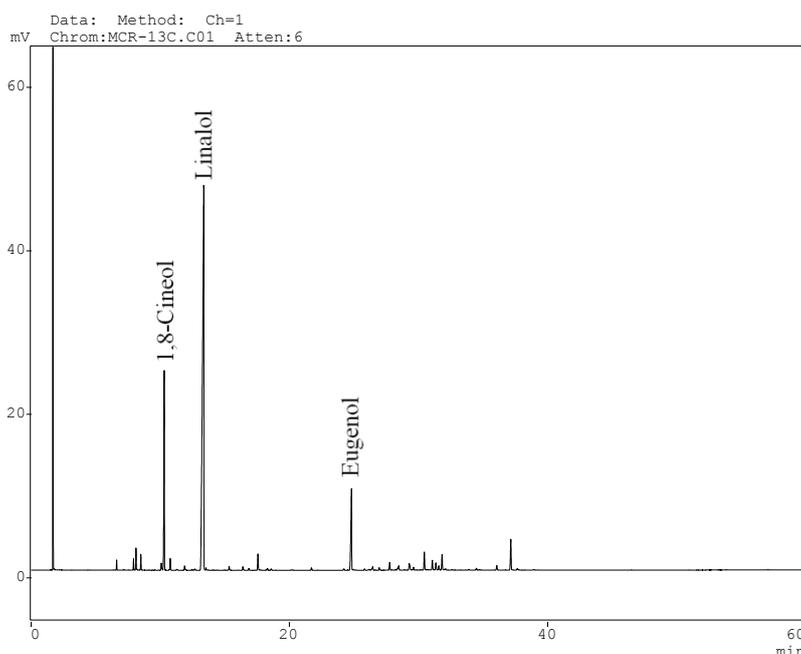


Figura 2.8 - Cromatograma FID com picos de 1,8-cineol, linalol e eugenol do óleo essencial de *O. basilicum* evidenciados.

Observa-se na literatura relatos da presença de diversos compostos químicos em variedades de *O. basilicum*, predominando o linalol, eugenol, 1,8-cineol, metil chavicol, cinamato de metila, α -bergamoteno entre outros (CAROVIC-STANKO et al., 2011; SILVA et al., 2003; VIEIRA E SIMON, 2000; KLIMÁNKOVÁ et al., 2007; JIROVETZ et al., 2003; VINÃ E MURILLO, 2003; LUZ et al., 2009; LUPE, 2007; SOARES et al., 2007; KÉITA et al., 2000). O material estudado apresenta assim características semelhantes àqueles que são comercializados e utilizados em diversas partes do mundo.

Rezende (2010) analisou o rendimento e composição de óleo essencial de *Ocimum basilicum* cultivar Maria Bonita utilizando folhas frescas e secas em duas épocas e dois tipos de adubação. Utilizando folhas frescas para a análise, houve maior rendimento de óleo essencial (0,69g/planta) no período com as maiores temperaturas e maior umidade relativa em relação à época de menor temperatura e umidade relativa, que apresentou média de 0,42 g/planta. Já a análise com folhas secas não mostrou diferença para os parâmetros avaliados. Assim como no presente trabalho, o autor também não observou diferenças qualitativas na composição do óleo essencial nas duas épocas estudadas e os compostos majoritários foram linalol, geraniol e 1,8-cineol.

A análise dos compostos majoritários realizada utilizando-se a percentagem relativa evidenciou diferenças significativas entre as épocas (Tabela 2.6).

Tabela 2.6 - Percentagem média dos três compostos majoritários do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. cultivado no Distrito Federal nas duas épocas coletadas: estação chuvosa, abril de 2011 e estação seca, setembro de 2011.

	1,8-Cineol	Linalol	Eugenol
Tratamento	Médias		
Chuva	12,148 b*	61,064 a*	9,165 a*
Seca	15,406 a	58,035 b	3,396 b

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

O linalol, composto químico presente em maior quantidade no manjeriço, apresentou na estação chuvosa um melhor rendimento em relação à estação, apresentando diferença de 3,03% (Tabela 2.6).

Ao estudarem o óleo essencial de *Ocimum basilicum L.*, Carvalho Filho et al. (2006) observaram que os maiores rendimentos de óleo essencial foram obtidos no período da manhã e que após quatro dias de secagem o teor de linalol aumentou 41,62%, o que pode ser explicado pela relação entre as variações na temperatura e a atividade metabólica das plantas.

Barros et al. (2009) ao analisarem o óleo essencial de *Lippia Alba* em Santa Maria, RS, observaram a diminuição, em termos de percentagem relativa, do teor de linalol no inverno, ao passo que o 1,8-cineol apresentou comportamento oposto. O comportamento do linalol contrário ao observado no presente estudo pode ser explicado pela diferença de clima da região onde foi conduzido o estudo de Barros, que apresenta invernos mais frios (temperatura média durante a condução do experimento foi de 15,2°C) e alta umidade relativa do ar durante todo ano, fato que não se aplica à região Centro-oeste.

Deschamps et al. (2008), ao estudar espécies de *Mentha*, observou diminuição no teor de óleo essencial na estação com menor temperatura e umidade relativa, sugerindo que as reduções na biossíntese de óleo essencial podem indicar um desvio das rotas metabólicas, buscando a sobrevivência em condições adversas.

Cunha (2011), ao avaliar a influência sazonal no teor de linalol do óleo essencial da *Aniba duckei* Kostermans, Lauraceae, constatou que a estação seca apresentou maior produtividade em relação à quantidade de linalol. Vale ressaltar que a espécie estudada por Cunha se refere a uma planta arbórea, e as diferenças observadas podem ser explicadas por fatores climáticos, ecológicos e de crescimento da planta. Além disso, o linalol obtido nas espécies arbóreas, utilizado principalmente na indústria

farmacêutica e de perfumaria é quimicamente diferente do encontrado em arbustos de uso majoritário para culinária como é o caso do manjeriço.

Na análise do 1,8-cineol, foi observado uma percentagem significativamente maior na estação seca que na amostra colhida na estação chuvosa, apresentando diferença de 2,912%.

O composto que apresentou maior diferença entre as épocas seca e chuvosa foi o eugenol. A percentagem de eugenol produzido foi drasticamente reduzida na estação seca, onde apresentou média de 3,396%, enquanto na estação chuvosa, a média foi 9,165% como pode ser observado na Tabela 2.6. A presença de eugenol é particularmente interessante, pois este confere ao manjeriço um sabor mais pungente.

Os comportamentos opostos em relação à percentagem relativa dos compostos linalol e 1,8-cineol (Tabela 2.6) podem ser explicados pela sua rota de biossíntese, pois o 1,8-cineol, assim como o linalol, é um terpenóide, e são sintetizados pela mesma via metabólica, a do ácido mevalônico. Assim, nota-se que o aumento de um composto (linalol ou 1,8-cineol) acarreta na diminuição do outro pela competição nas rotas biossintéticas.

Como as avaliações de percentagem são relativas, quando há o aumento ou diminuição na percentagem de um composto, o efeito compensador ocorre nos demais componentes do óleo essencial.

A análise feita utilizando a curva padrão para a determinação da quantidade, em miligramas, dos compostos encontrados no óleo mostrou que a estação chuvosa promove um aumento quantitativo no linalol. Os gráficos com as curvas padrão utilizadas para a determinação dos valores em miligramas dos compostos são apresentados nas figuras 2.8 e 2.9.

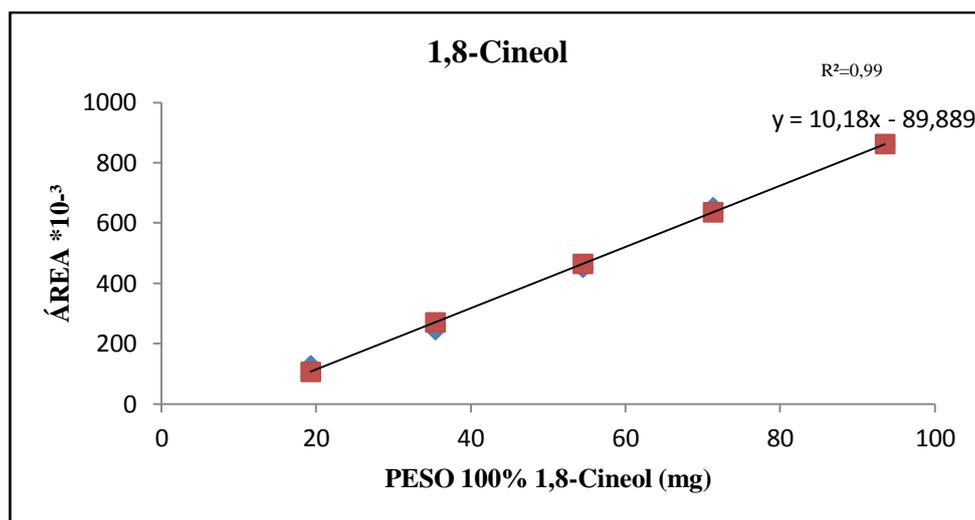


Figura 2.9: Curva padrão de 1,8-cineol, calculada a partir da área do gráfico dos padrões e dos valores encontrados nas amostras de *O. basilicum* obtidos por CG/FID.

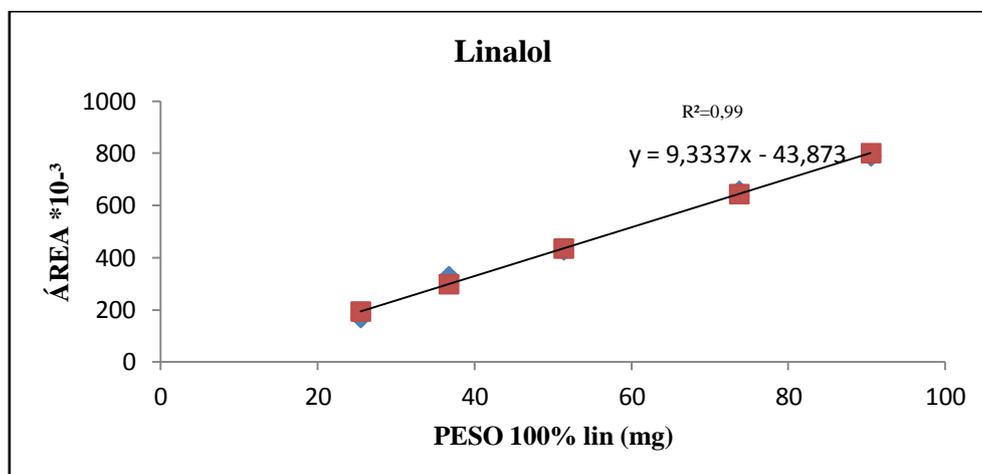


Figura 2.10: Curva padrão de linalol, calculada a partir da área do gráfico dos padrões e dos valores encontrados nas amostras de *O. basilicum* obtidos por CG/FID.

No linalol, observou-se diferença significativa entre as épocas, sendo que todos os indivíduos analisados apresentaram maior quantidade de linalol na estação chuvosa (Tabela 2.7). Nota-se que a média na estação chuvosa foi de 54,49 miligramas, enquanto na estação seca foi de 35,27 miligramas, representando uma redução de 35,27% na quantidade do composto.

O 1,8-cineol não apresentou diferença significativa nas épocas analisadas, demonstrando um contraste em relação aos dados observados na análise com percentagens relativas. O cálculo de percentagens representa um valor relativo de quanto o composto representa em relação aos demais presentes nas amostras. Pode-se concluir que na análise porcentual, a quantidade de 1,8-cineol se

mostra maior na estação seca devido à diminuição na quantidade do linalol, que apresentou evidente decréscimo.

Tabela 2.7 - Quantidade média, em miligramas, dos compostos 1,8-cineol e linalol encontrados no óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. cultivado no Distrito Federal nas duas épocas coletadas: estação chuvosa, abril de 2011 e estação seca, setembro de 2011.

	1,8-cineol	Linalol
Tratamento	Média	
Chuva	18,006 a*	54,489 a*
Seca	16,429 a	35,269 b

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Embora muitos autores não realizem a análise utilizando a curva de padrões, esta se mostra de grande importância, pois permite que a avaliação dos componentes químicos seja realizada de forma absoluta, ou seja, permite a obtenção da real quantidade do componente químico encontrado na amostra em questão.

CONCLUSÃO

Na época chuvosa foram encontrados os melhores resultados em termos de produção de massa fresca e rendimento de óleo essencial.

Os três compostos majoritários encontrados no óleo essencial de manjeriço foram linalol, 1,8-cineol e eugenol.

Houve efeito de época para a massa fresca e seca das plantas, o rendimento de óleo essencial, a percentagem relativa dos compostos majoritários e a quantidade em miligramas de linalol.

Os resultados evidenciam que a época de colheita é um fator determinante para o aumento na produção e obtenção de óleo essencial de melhor qualidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARITAUX, O.; RICHARD, T. J.; DERBESY, M. Effects of drying and storage of herbs and spices on the essential oil: part I: Basil, *Ocimum basilicum* L. Flavour and Fragrance Journal, [S.l.], v. 7, p. 267-271, 1992.

DE BARROS, F. M. C., ZAMBARDA, E. O., HEINZMANN, B. M. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). Quim. Nova, Vol. 32, No. 4, 861-867, 2009.

BLANK, A. F., Carvalho Filho, J. L.S., Santos Neto, A. L., Alves, P. B., Arrigoni-Blank M. F., Silva-Mann, R, Mendonça M. C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriço e alfavaca. Hortic. Bras.vol.22 no.1Brasília Jan./Mar. 2004.

BLANK, A. F., COSTA, A. G., ARRIGONI-BLANK, M. F., CAVALCANTI, S. C. H., ALVES, P. B., INNECCO, R., EHLERT, P. A. D., SOUZA, I. F. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. Brazilian Journal of Pharmacognosy. 17(4): 557-564, Out./Dez. 2007.

BOTREL, P. P., PINTO, J. E. B. P., FERRAZ, V., BERTOLUCCI, S. K. V., FIGUEIREDO, F. C. Teor e composição do óleo essência de *Hyptis marrubioides* Epl., Lamiaceae em função da sazonalidade. Acta Scientiarum. Agronomy. Maringá, v.32, n.3, p. 533-538, 2010.

CARVALHO-FILHO J.L.S., BLANK A.F., ALVES P.B., EHLERT P.A.D., MELO A.S., CAVALCANTI S.C.H., ARRIGONI-BLANK M.F., SILVA-MANN R. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. Rev Bras Farmacogn 16: 24-30. 2006.

CARNEIRO, F. B., JUNIOR, I. D., LOPES, P. Q., MACEDO, R. O. Variação da quantidade de β -cariofileno em óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., Lamiaceae, sob diferentes condições de cultivo. Revista Brasileira de Farmacognosia 20(4): 600-606, Ago./Set. 2010.

CAROVIC-STANKO, K., LIBER, Z., POLITEO, O., STRIKIC, F., KOLAC, I., MILOS, M. SATOVIC Z., Molecular and chemical characterization of the most widespread *Ocimum* species. Plant Syst Evol (2011) 294:253–262.

CHAGAS, J. H., PINTO, J. E. B. P., BERTOLUCCI, S. K. V., DOS SANTOS, F. M. Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função da idade e época de colheita em plantas de hortelã-japonesa. Acta Scientiarum. Agronomy Maringá, v. 33, n. 2, p. 327-334, 2011.

CHALCHAT, J. C. ,GARRY, R. P., SIDIBE, L., HARANA, M. Aromatic plants of Mali (I): chemical composition of essential oils of *Ocimum basilicum* L. Journal of Essential Oil Research. 1999, 11: 3, pg. 375-380.

CHARLES, D.J.; SIMON, J.E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil (*Ocimum* spp.). Journal of the American Society for Horticultural Science, v.115, n.3, 1990, pg. 458-462.

CHAVES, F.C.M. Produção de biomassa, rendimento e composição do óleo essencial de Alfavaca – cravo (*Ocimum gratissimum* L.) em função da adubação orgânica e épocas de corte. Botucatu. 144p. Tese (Doutorado em Agronomia/ - Área de Concentração: Horticultura) Faculdade de Ciências Agrônômicas –UNESP - Botucatu.2002.

CHRISTENSEN, L. P., GREVSEN, K. Effect of development stage at harvest on the composition and yield of essential oils from thyme and oregano. Flavour Science: Recent Advances and Trends, p. 261-264, 2006.

CROTEAU, R. et al. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAM, B.B. et al. Biochemistry & molecular biology of plants. Rockville: Courier Companies, 2000, pg.1250-1318.

CUNHA, L. N. Influência sazonal no teor de linalol do óleo essencial da *Aniba duckei* Kostermans cultivada em ambiente natural na reserva florestal Ducke. Ciência e Natura, UFSM, 33 (1): 7 - 15, 2011.

DESCHAMPS, C., ZANATTA, J. L., BIZZO, H. R., OLIVEIRA, M. C., ROSWALKAS, L. C. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de menta. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 32, n. 3, p. 725-730, maio/jun., 2008.

ECKELMANN, S.B.J. Biodiversität der Gattung *Ocimum* L., insbesondere der Kultursippen. 142 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Curso de Pós-graduação da Universität Kassel, Kassel, Alemanha. 2002.

ELEMENTI, S., NERI, R., & D'ANTUONO L.F. Biodiversity and selection of “European” basil (*Ocimum basilicum*) types. ISHS Acta Horticulturae723: I International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation. Nov. 30, 2006 Sanremo Italy, Abstract.

ELISABETSKY, E., MARSCHNER, J., SOUZA, D. O. Effects of linalool on glutamatergic system in the rat cerebral cortex. Neurochemical Research, vol. 20, n. 4, 461-465, 1995.

ESCOBAR, R. G. Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. Rev. Cub. Estomatol., v.39, n.2, 2002, pg. 139-156.

FAHN, A. Secretory tissues in plants. London: Academic Press, 1979, pg.158-222.

FARIAS, M. R. Em Farmacognosia da planta ao medicamento: Avaliação da Qualidade de matéria primas vegetais; Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; de Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., eds.; 5ª ed., UFSC e UFRGS Ed.: Porto Alegre, 1999.

FERNANDES, P.C., FACANALI, R., TEIXEIRA, J.P.F., FURLANI, P.R., MARQUES, M.O.M. Cultivo de manjerição em hidroponia e em diferentes substratos

sob ambiente protegido. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.2, p.260-264, abril-junho 2004.

FERREIRA, S.R.S. Extração com dióxido de carbono líquido subcrítico de óleo essencial de pimenta-do-reino. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 1991.

FIGUEIREDO, A. C., BARROSO, J. G., PEDRO, L. G., SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragr. J.* 2008; 23: 213–226.

FLEISHER, A. Essential oils from two varieties of *Ocimum basilicum* L. grown in Israel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.32, 1981, pg.1119-1122.

GARLET, T.M.B.; SANTOS, O.S.; MEDEIROS, S.L.P.; MANFRON, P.A.; GARCIA, D.C.; BORCIONI, E.I. & FLEIG, V. Produção e qualidade do óleo essencial de menta em hidroponia com doses de potássio. V.37, Santa Maria/RS: *Ciência Rural*, n.4, 2007, pg 956-962.

GRAY JR, KITE GC, GOLDSTONE FJ, BRYAN SE, PATON A, PUTIEVSKY E. Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry* 1996; 43: 1033-1039.

GUPTA R. Basil (*Ocimum* sp) Newsletter – G-15 Gene Banks for medical & Aromatic Plants. June-December, 5 / 6, 1994, pg. 1-3. Macchia, M., Pagano, A., Ceccarini, L., Benvenuti, S., Cioni, P.L., Flamini G. Agronomic and Phytochemical Characteristics in some Genotypes of *Ocimum basilicum* L. *ISHS Acta Horticulturae* 723: I International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation. Sanremo Italy, Abstract. 2006.

JIROVETZ, L., BUCHBAUER, G., SHAFI, M. P., KANIAMPADY, M. M. Chemotaxonomical analysis of the essential oil aroma compounds of four different *Ocimum* species from southern India. *Eur Food Res Technol* (2003) 217:120–124.

KÉITA, S. M., VINCENT, C., SCHMIT, J. P., BÉLANGER, A. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. and *O. suave* L. in the Republic of Guinea. *Flavour Fragr. J.* 15: 228-230, 2000.

KLIMÁNKOVÁ E., HOLADOVÁ, K., HAJŠLOVÁ, J., CAJKA, T., POUTSKA, J., KOUDELA, M. Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. *Food Chemistry* 107 (2008) 464–472.

LABRA, M.; MIELE, M.; LEDDA, B.; GRAS, F.; MAZZEI, M.; SALA, F.; *Plant Sci.* 2004, 167, 725.

LAWRENCE, B.M. 1993. A planning scheme to evaluate new aromatic plants for the flavor and fragrance industries. p. 620-627. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York.

- LUPE, F. A. Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP, 2007.
- LUZ, J. M. Q., MORAIS, T. P. S., BLANK, A. F., SODRÉ, A. C. B., OLIVEIRA, G. S. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango. *Horticultura Brasileira* 27: 349-353, 2009.
- MAIA, J. T. L. S., MARTINS, E. R., CASALI, V. W. D., BARBOSA, L. C. Variação na Composição do Óleo Essencial de Acessos de *Ocimum selloi* Benth. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1089-1091, jul. 2007.
- MAROTTI, M., PICCAGLIA, R., GIOVANELLI, E. Differences in Essential Oil Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian Cultivars Related to Morphological Characteristics. *J. Agric. Food Chem.* 1996, 44, 3926-3929.
- MARTINS, A. P., SALGUEIRO, L. R., VILA, R., TOMI F., CANIGUERAL, S., CASANOVA, J., CUNHA, A. P., ADZET, T. Composition of the essential oils of *Ocimum canum*, *O. gratissimum* and *O. minimum*. *Planta Medica*. 1999, 65: 2, 187-189.
- MARTINS, F. T., DOS SANTOS, M. H., POLO, M. Variação química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., sob condições de cultivo. *Quim. Nova*, Vol. 29, No. 6, 1203-1209, 2006.
- MARTINS, J. R. Influência da luz no acúmulo e na composição do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L. In: _____. Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L. Dissertação ((Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2006.
- MATOS, F.J.A.(ORG); SOUZA, M.P.; MATOS, M.E.O.; MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L & CRAVEIRO, A.A. Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras. Fortaleza/CE: Editora UFC, 448p. 2004.
- MULLER-RIEBAU FJ, Berger BM, Yegen O, Cakir C. Seasonal variation in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing in Turkey. *J Agric Food Chem* 45:4821-4825. 1997.
- MURRAY, M.J. & LINCOLN, D.E. The Genetic basis of acyclic oil constituents in *Mentha citrata* Ehrh. Michigan: Genetics, n65, p.457-471. 1970.
- NOGUEIRA, M. A.; DIAS, M. G.; TAGAMI, P. M.; LORSCHHEIDE, J. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias cariogênicas. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v.28, p.93-97, 2007.
- NTEZURUBANZA, L.; SHEFFER, J. J. C.; LOOMAN, A. Composition of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum* grown in Ruanda. *Planta Medica*, [S.l.], v. 50, n. 5, p. 385-388, 1984.

OZCAN, M. & CHALCHAT, J. C. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* and *Ocimum minimum* in Turkey. Czech Journal of Food Sciences., 20: 6, 223-228. 2002.

OZEL, A., RAM, D. & OZGUVEN, M. Effect of different planning times on essential oil components of different mint (*Mentha* spp.) variets. Tubitak: Turk Agric, 289-294 p. 2002.

PEREZ, A. M. J.; VELASCO, N. A.; DURU, M. E. Composition of the essential oils of *Ocimum basilicum* var. *glabratum* and *Rosmarinus officinalis* from Turkey. Journal of Essential Oil Research, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 73-75, 1995.

PERRI N.B., ANDERSON R.E., BRENNAN N.J., DOUGLAS M.H., HEANEY A.J., MCGIMPSEY J.A., SMALLFI ELD B.M. Essential oils from Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.): Variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. J Agric Food Chem 47:2048-2054. 1999.

PUTIEVSKY, E.; PATON, A.; LEWINSOHL, E.; RAVID, U.; HAIMOVICH, D.; KATZIR, I.; SAADI, D.; DUDAI, N. CROSSABILITY and Relationship Between Morphological and Chemical Varieties of *Ocimum basilicum* L. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 1540-3580, Volume 6, Issue 3, Pages 11 – 24. 1999.

PUTIEVSKY, E., GALAMBOSI, B. Basil: The Genus *Ocimum*. Production systems of sweet basil. Edited by Raimo Hiltunen and Ynonne Holm. P. 39-65, 1999.

REZENDE, R. F. Produção de biomassa e óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em diferentes épocas, ambientes de cultivo e tipos de adubação. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Agrárias, Uberlândia, MG, 2010.

SANSON, A. D. Morfologia, produção de biomassa e caracterização química do óleo essencial de seis acessos de *Ocimum spp.* comercializados em Salvador-Ba e Brasília-DF. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2009. 36 f. Dissertação de Mestrado.

SANTOS, M.V.; COSTA, A.M.G.; FROTA, P.T.T.; SOUZA, L.N.C.; BRITO, T.S.; CARDOSO, J.H.L. & MAGALHÃES, P.J.C. Efeito Vasorelaxante do 1,8-Cineol em Aorta de Rato in vitro. Fortaleza/CE: Anais da 57ª Reunião Anual da SBPC, 2005.

SANTOS, M.R.A., INNECCO, R. Influência de períodos de secagem de folhas no óleo essencial de erva-cidreira (quimiotipo limoneno-carvona). Revista Ciência Agronômica, Vol. 34, Nº. 1 – 2003.

DA SILVA, F., SANTOS, R. H. S., DINIZ, E. R., BAROBOSA, L. C. A., CASALI, V. W. D., DE LIMA, R. R. Teor e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em dois horários e duas épocas de colheita. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.6, n.1, p.33-38, 2003.

SIMON, J.E., J. QUINN, and R.G. MURRAY. Basil: A source of essential oils. p. 484-489. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), Advances in new crops. Timber Press, Portland, OR. 1990.

- SIMON, J. E., QUINN, J., MURRAY, R. C. Basil: a source of essential oils. J. Janick (ed.), ASHS Press, Alexandria, VA. Perspectives on new crops and new uses. 1999.
- SOARES, R. D., CHAVES, M. A., DA SILVA, A. A. L., SOUZA, B. S. Influência da temperatura e velocidade do ar na secagem de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) com relação aos teores de óleos essenciais e de linalol. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 4, p. 1108-1113, jul./ago., 2007.
- SUCHORSKA, T. K. & OSINSKA, E. Morphological developmental and chemical analyses of 5 forms of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Annals of Warsaw Agricultural University. Horticulture-Landscape-Architecture. No.22, 17-22. 2001.
- SKOULA M., ABBES J.E., JOHNSON C.B.. Genetic variation of volatile oils and rosmarinic acid in populations of *Salvia sufruticosa* Mill. growing in Greece. Biochem, p.551-561. 2000.
- SUH, E. J. & PARK, K. W. Composition and content of essential oil in hydroponically-grown basil at different seasons. Journal of the Korean Society for Horticultural Science v.40, n. 3, p.331-335, 1999a.
- SUH, E. J. & PARK, K. W. Comparison of volatile flavor components of three basil cultivars in hydroponics. Journal of the Korean Society for Horticultural Science v.40, n.2, p.188-192, 1999b.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- TANSI, S. and S. NACAR, The herb yield and essential oil composition of bush Basil (*Ocimum minimum* O L.) Grown in Turkey. Turk. J. Field Crops, 4:71-74.
- TAVARES E.S., JULIÃO L.S., Lopes D., Bizzo H.R., Lage C.L.S., Leitão S.G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes, 2005. Rev Bras Farmacogn 15: 1-5.
- TESI, R.; PAOLUCCI, B.; TOSI, D. Basil (*Ocimum basilicum* L.) genetics and breeding. 2: Cultivars characteristics. Sementi Elette v. 37(5) p. 7-13 (Sep-Oct 1991).
- TREVISAN, M. T. S., SILVA, M. G. V., PFUNDSTEIN, B., SPIEGELHALDER, B., OWEN R. W. Characterization of the Volatile Pattern and Antioxidant Capacity of Essential Oils from Different Species of the Genus *Ocimum*. J. Agric. Food Chem. 2006, 54, 4378-4382.
- UMERIE, S.C., ANASO, H.U.; ANYASORO, L.J.C. Insecticidal potentials of *Ocimum basilicum* leaf extracts. Bioresource Technology, v.64, n.3, p.237-239, 1998.
- VASCONCELOS, S.M.G., MATOS, F. J. A., MACHADO, M. I. L. & CRAVEIRO, A. A. Essential oils of *Ocimum basilicum* L., *O. basilicum*. var. *minimum* L. and *O. basilicum*. var. *purpurascens* Benth. grown in north-eastern Brazil. Flavour and Fragrance Journal. January-February 2003 2003; 18 (1): 13-14.

VERMA, R. S., PADALIA, R. C., CHAUHAN, A. Variation in the volatile terpenoids of two industrially important basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars during plant ontogeny in two different cropping seasons from India. *J Sci Food Agric.* 92: 626–631, 2012.

VESELA D., SMAN D., VALTERONOVÁ I., VANEK T . Seasonal variations in the contents of taxanes in the bark of *Taxus baccata* L. *Phytochem Anal* 10:319-321. 1999.

VIEIRA, R. F., SIMON, J. E. Chemical characterization os Basil (*Ocimum spp.*) found in the markets and used in traditional medicine in Brasil. *Economic Botany* 54(2) p. 207-216, 2000.

VIEIRA R.F., GRAYER R., PATON A., SIMON J.E. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers, *Biochem Syst Ecol.* p.287-304. 2001.

VINÃ, A., MURILLO, E. Essencial oil composition from twelve varieties of Basil (*Ocimum spp*) grown in Colombia. *J. Braz. Chem. Soc.* v.14 n.5, p. 744-749, 2003.

ANEXO II
ANÁLISE ESTATÍSTICA

Variável analisada: PFT

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	1212402.054645	1212402.054645	23.498	0.0009
REPE	9	3020264.427705	335584.936412	6.504	0.0051
erro	9	464365.699905	51596.188878		
Total corrigido	19	4697032.182255			
CV (%) =	28.76				
Média geral:	789.6935000	Número de observações:		20	

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 10

Erro padrão: 71,8304871752471

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	543.482000	a1
1	1035.905000	a2

Variável analisada: PST

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	68831.644500	68831.644500	13.153	0.0055
REPE	9	103489.134300	11498.792700	2.197	0.1283
erro	9	47097.838600	5233.093178		
Total corrigido	19	219418.617400			
CV (%) =	43.63				
Média geral:	165.8000000	Número de observações:		20	

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 10
Erro padrão: 22,8759550134585

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	107.135000 a1	
1	224.465000 a2	

Variável analisada: PFS

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	5499.917780	5499.917780	8.044	0.0195
REPE	9	23450.591420	2605.621269	3.811	0.0295
erro	9	6153.345720	683.705080		
Total corrigido	19	35103.854920			
CV (%) =	35.97				
Média geral:	72.7020000	Número de observações:	20		

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 10
Erro padrão: 8,26864608022377

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	56.119000 a1	
1	89.285000 a2	

Variável analisada: 1,8-cineol_percentagem

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	53.108664	53.108664	22.852	0.0010
REPE	9	11.736849	1.304094	0.561	0.7988
erro	9	20.916471	2.324052		

Total corrigido	19	85.761985	
CV (%) =	11.07		
Média geral:	13.7770500	Número de observações:	20

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 10
 Erro padrão: 0,482084264764298

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	12.147500 a1	
2	15.406600 a2	

Variável analisada: Linalol_percentagem

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	45.874205	45.874205	18.271	0.0021
REPE	9	38.862601	4.318067	1.720	0.2158
erro	9	22.597117	2.510791		
Total corrigido	19	107.333923			
CV (%) =	2.66				
Média geral:	59.5495000	Número de observações:	20		

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 10
 Erro padrão: 0,501077915875143

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	58.035000 a1	
1	61.064000 a2	

Variável analisada: Eugenol_percentagem

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	166.435651	166.435651	187.366	0.0000
REPE	9	1.032516	0.114724	0.129	0.9973
erro	9	7.994605	0.888289		
Total corrigido	19	175.462773			
CV (%) =	15.01				
Média geral:	6.2803500	Número de observações:		20	

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 10
Erro padrão: 0,298041854816102

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	3.395600 a1	
1	9.165100 a2	

Variável analisada: Linalol_miligramas

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	1846.561531	1846.561531	29.640	0.0004
REPE	9	694.799596	77.199955	1.239	0.3773
erro	9	560.700119	62.300013		
Total corrigido	19	3102.061247			
CV (%) =	17.59				
Média geral:	44.8779500	Número de observações:		20	

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 10
 Erro padrão: 2,49599706029474

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	35.269200 a1	
1	54.486700 a2	

Variável analisada: 1,8-cineol_miligramas

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	12.437799	12.437799	2.893	0.1232
REPE	9	56.636929	6.292992	1.464	0.2898
erro	9	38.698543	4.299838		
Total corrigido	19	107.773271			
CV (%) =	12.04				
Média geral:	17.2172000	Número de observações:	20		

Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 10
 Erro padrão: 0,655731506707501

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	16.428600 a1	
1	18.005800 a1	

Variável analisada: óleo_percentagem

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	0.684130	0.684130	12.612	0.0062
REPE	9	1.059818	0.117758	2.171	0.1319
erro	9	0.488210	0.054246		

Total corrigido	19	2.232159	
CV (%) =	16.37		
Média geral:	1.4224500	Número de observações:	20

 Teste Scott-Knott (1974) para a FV TRAT

NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 10
 Erro padrão: 0,0736516161095977

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	1.237500	a1
1	1.607400	a2

