

## Anatomia Foliar de *Ocimum basilicum* L. “Genovese” (Lamiaceae)

### Leaf Anatomy of *Ocimum basilicum* L. “Genovese” (Lamiaceae)

Marcos Roberto Furlan<sup>1</sup>, Elisa M. Aoyama<sup>2\*</sup>, Alexandre Indriunas<sup>3</sup>, Cláudia Mauro<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Agrárias, Universidade de Taubaté – UNITAU, Rua 4 de março, 432, centro, 12020-270, Taubaté, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Rodovia BR 101 Norte km 60, Bairro Litorâneo, 29932-540, São Mateus, ES, Brasil.

<sup>3</sup>Centro Universitário SENAC - Campus Santo Amaro, Av. Engenheiro Eusébio Stevaux, 823, Santo Amaro, CEP 04696-000, São Paulo, SP.

<sup>4</sup>Facis/Ibehe, Rua Bartholomeu de Gusmão, 86, Vila Mariana, 04111-020 São Paulo, SP, Brasil.

\*Correspondência: \*e-mail: elisaoyama@yahoo.com.br

**Palavras chave:**

estrutura foliar; tricomas; manjerição.

**Keywords:**

leaves structure; trichomes; basil.

### Resumo

O controle botânico de uma espécie, principalmente o anatômico, é imprescindível para as indústrias farmacêuticas e de condimentos, porém, ainda são poucas as espécies destinadas a esses usos que tiveram suas características analisadas. Dentre elas as espécies de *Ocimum*, que apresentam complexidade devido à ampla ocorrência de variedades e cultivares. Este trabalho teve por objetivo caracterizar anatomicamente as folhas de *Ocimum basilicum* L. “Genovese” manjerição-italiano. Folhas das plantas cultivadas na UNITAU, Taubaté, SP, foram coletadas e submetidas a técnicas usuais de histologia. Em vista frontal, células epidérmicas de paredes anticlinais sinuosas em ambas as faces; são anfiestomáticas, com estômatos do tipo diacítico; apresentam numerosos tricomas tectores, unisseriados e pluricelulares, e glandulares sésseis, com mais frequência na região da nervura central, e glandulares peltados e capitados. O pecíolo, em vista transversal, tem secção côncavo-convexa; epiderme unisseriada, cutícula lisa e delgada. Na epiderme superior, foram observados numerosos tricomas tectores unisseriados, uni a tricululares, e glandulares, com pedicelo e glândula capitada unicelulares. O feixe vascular colateral em forma de arco raso aberto; e os elementos de vaso do metaxilema e protoxilema estão enfileirados, com poucas fibras esclerenquimáticas. Os caracteres observados complementam as informações para a espécie, descrevendo dados inéditos para o cultivar, possibilitando uma diagnose mais acurada e eficiente.





## Abstract

The botanical control of species especially anatomical is necessary for the pharmaceutical and spices industries. Nevertheless, there are few species that had their characteristics analyzed. Among these aim *Ocimum* species, which have a complexity because of the widespread occurrence of varieties and cultivars. This work aimed to characterize anatomically the leaves of *Ocimum basilicum* L. 'Genovese'. Leaves of plants grown at UNITAU, Taubate, SP, were collected and subjected to the usual techniques of histology. The leaves blades have in front view, epidermal cells sinuous anticlinal walls on both sides, amphistomatic, with diacytic stomata; uniseriate and multicellular trichomes, and sessile glandular trichomes, most frequently in the midrib region, and peltate and capitate glandular trichomes. The petiole, in transverse view, has a concave-convex section, uniseriate epidermis, cuticle smooth and thin, and at the upper epidermis numerous uniseriate trichomes were observed, as well as uni-tricellular and glandular trichomes with unicellular pedicel and unicellular capitate glands, collateral vascular bundle is present in the form of shallow open arc with few sclerenchyma fibers. The set of anatomical characters observed in this study complement the information for the species *Ocimum basilicum*, describing unpublished data to the cultivar. This enables a more accurate and efficient diagnosis of the cultivar.

## Introdução

Para o controle de qualidade de uma espécie utilizada na indústria de fármacos e condimentos é imprescindível que seja feito pelo menos uma das etapas da análise farmacognóstica, à caracterização das amostras vegetais (organoléptica, macroscópica e microscópica), as quais podem auxiliar nas determinações da autenticidade dos produtos e também podem ser determinantes para diferenciá-la de outras espécies, inclusive as que são semelhantes externamente ou botanicamente próximas.

Conforme Mentz e Bordignon (2004), as pesquisas que fornecem características botânicas comparativas contribuem para a detecção de espécies adulterantes. (Leite et al. 2007), trabalhando com *Echinodorus macrophyllus* (Kunth) Micheli (Alismataceae), observam que os estudos que realizaram, relacionados à anatomia vegetal desta espécie, contribuíram para ampliar e aprofundar as informações contidas nas Farmacopeias Brasileiras (1929, 1959), acrescentando que as características estruturais contribuem para a identificação da espécie e fornecem parâmetros que poderão ser aplicados, futuramente, no controle de qualidade e farmacognóstico.

Apesar da importância desses estudos, ainda são poucas as plantas medicinais ou condimentares, de alto valor econômico, que tiveram suas características anatômicas analisadas, como, por exemplo, as espécies do gênero *Ocimum* L., pertencente à família Lamiaceae.

Com relação a esse gênero *Ocimum*, (Blank et al. 2010) apontam que compreende em torno de 3.200 espécies, originárias do sudeste asiático e da África Central, e que se adaptaram muito bem aos solos brasileiros. Dentre os cultivares e as variedades do gênero *Ocimum*, de maior aplicação nas indústrias,

encontra-se o *Ocimum basilicum* L. "Genovese", o manjeriço-italiano, que, apesar de ser um dos cultivares de maior importância econômica, carece de informações relevantes sobre seus aspectos anatômicos.

A identificação botânica das espécies de *Ocimum* é extremamente complicada, devido à ampla ocorrência de variedades, além de diferenças na composição química de seus óleos essenciais (Ehlert et al., 2006). (Labra et al. 2004) justificam que, devido à interferência do homem com o cultivo, a seleção e a hibridação, no gênero, ocorre grande variação morfológica entre as suas diferentes espécies.

Estudos sobre a anatomia desta espécie trarão contribuições para diferenciar ou auxiliar na comprovação das identificações das espécies, dos cultivares ou das variedades do gênero *Ocimum*. Portanto, objetivou-se, no presente estudo, a caracterização anatômica das folhas de *Ocimum basilicum* L. "Genovese".

## Material e Métodos

Para a análise foram coletados, na Fazenda Experimental do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade de Taubaté, Taubaté - SP, 10 exemplares do cultivar "Genovese", em pleno florescimento. Essas plantas foram cultivadas a partir de sementes importadas da Itália, cadastrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento no Registro Nacional de Cultivar (RNC) sob o número 09704.

Para o estudo anatômico foram analisadas folhas do manjeriço-italiano no Laboratório de Botânica da Faculdade Oswaldo Cruz, em São Paulo, SP.

Após a coleta, as folhas frescas, retiradas do 2º e 3º nós, do manjeriço-italiano foram colocadas em solução de FAA (formaldeído: ácido acético: álcool etílico





70%, 2:1: 18, v/v), de acordo com Johansen (1940), por 48 horas e, posteriormente, transferidos para etanol 70%.

Com o auxílio de isopor e com uma lâmina de aço inoxidável, foram realizadas secções transversais a mão livre na região mediana do limbo e do pecíolo. Em seguida, as secções foram clarificadas em solução de hipoclorito de sódio a 30% (Kraus e Ardium, 1997), lavadas com água destilada e, imediatamente, fez-se a coloração em solução alcoólica de azul de alcian a 1% e solução alcoólica de fucsina básica a 1% (Luque, Souza e Kraus, 1996). As secções foram montadas em lâminas temporárias com glicerina a 50% (Purvis, Collier e Walls, 1964).

Cortes paradérmicos de ambas as faces do limbo, na região mediana, foram realizados a mão livre, para a observação de estômatos, seguindo o mesmo procedimento de clarificação e coloração.

As lâminas foram analisadas ao microscópio fotônico, e as imagens obtidas no microscópio binocular Coleman, acoplado à câmara clara (modelo XSZ-107 BN), e as fotos na máquina Minolta a 507 SI, Asa 100, ambos com projeção de escala micrométrica. A descrição seguiu as convenções estabelecidas em Metcalfe e Chalk (1979).

## Resultados e Discussão

A folha de *Ocimum basilicum* L. "Genovese", em vista frontal, apresenta células epidérmicas, com paredes anticlinais sinuosas, nas faces adaxial e abaxial. As folhas são anfiestomáticas, com estômatos do tipo diacítico (figura 1), com mais abundância na face abaxial. Segundo Metcalfe e Chalk (1979), folhas anfiestomáticas é uma característica comum às Lamiaceae. Darrah (1974) relata que, com relação à presença de estômatos na espécie *O. basilicum*, estes são distribuídos em ambas as faces da folha, enquanto que, nas espécies *O. sanctum*, *O. canum* e *O. kilimandscharicum*, são encontrados somente na face abaxial.

Quanto ao tipo, Ogunkunle e Oladele (1997), em estudo sobre o complexo estomático de espécies nigerianas de *Ocimum basilicum*, observaram estômatos dos tipos diacítico, anisocítico e anfidiacítico. (Martins et al., 2009) observaram, em *O. gratissimum*, estômatos do tipo anomocítico. Porém, Olowokudejo e Pereira-Sheteolu (1988) apontam que o tipo característico do gênero *Ocimum* é o anfidiacítico.

Na superfície são observados numerosos tricomas tectores, podendo ser unisseriados e pluricelulares, além de tricomas glandulares sésseis encontrados com mais frequência na região da nervura central (figura 3), e tricomas glandulares peltados e capitados.

Conforme citado por Metcalfe e Chalk (1979), é comum entre as espécies dessa família, a presença de vários tipos de tricomas na folha, sendo considerada uma característica de grande valor para a identificação taxonômica, como já observada em estudos com espécies de *Mentha* (Martins, 2002; Deschamps et al., 2006) e com espécies de *Cunila* (Toledo, Alquimi e Nakashima, 2004; Xifreda e Mallo, 2006).

(Werker et al., 1993) observaram, em *O. basilicum*, tricomas glandulares de dois tipos, os capitados, que são pequenos, com uma célula na base, uma no pedúnculo e uma ou duas constituindo a cabeça; e peltados com base e pedúnculo semelhantes ao anterior, mas com a cabeça formada por 4 células. Com relação aos numerosos tricomas glandulares, Hay e Svoboda (1993) observaram que são os responsáveis pelo armazenamento e a síntese dos compostos terpênicos.

Youngken (1951) observa que os elementos mais importantes para o reconhecimento de *O. basilicum* são os tricomas não glandulares uni ou bicelulares, com ampla base, extremidade pontiaguda e cutícula finamente verrugosa, assim como os glandulares com cabeças composta por 2 a 4 células.

A lâmina, em secção transversal, apresentou epiderme unisseriada, constituída de células retangulares, periclinamente muito compactadas (figuras 2 e 3), recobertas por uma cutícula lisa e extremamente delgada em ambas as faces. O mesofilo é dorsiventral, constituído por uma a duas camadas de parênquima paliçádico e duas a quatro camadas de parênquima lacunoso (figuras 2 e 3).

Na região da nervura central, há um feixe colateral, em forma de arco (figura 2); e constataram-se 3 a 4 camadas de colênquima angular (figura 3). Satil e Kaya (2007) e Satil, Ünal e Hopa, (2007) observaram organização anatômica semelhante para outras espécies de Lamiaceae.

O pecíolo, em vista transversal, tem secção côncavo-convexa; epiderme unisseriada, constituída por células muito pequenas e compactadas em relação às demais, com formato isodiamétrico; e, na epiderme superior, foram observados numerosos tricomas tectores unisseriados, uni a trichelulares, e tricomas glandulares (menos frequentes), com pedicelo unicelular e glândula capitada unicelular; e não foram observados na epiderme inferior (figura 4), portanto, a face abaxial é glabra.

Logo abaixo da epiderme foram encontradas de 2 a 3 camadas de colênquima angular; o córtex do pecíolo é constituído por parênquima homogêneo isodiamétrico, com meatos (figura 4); não foram observados cristais de oxalato de cálcio.

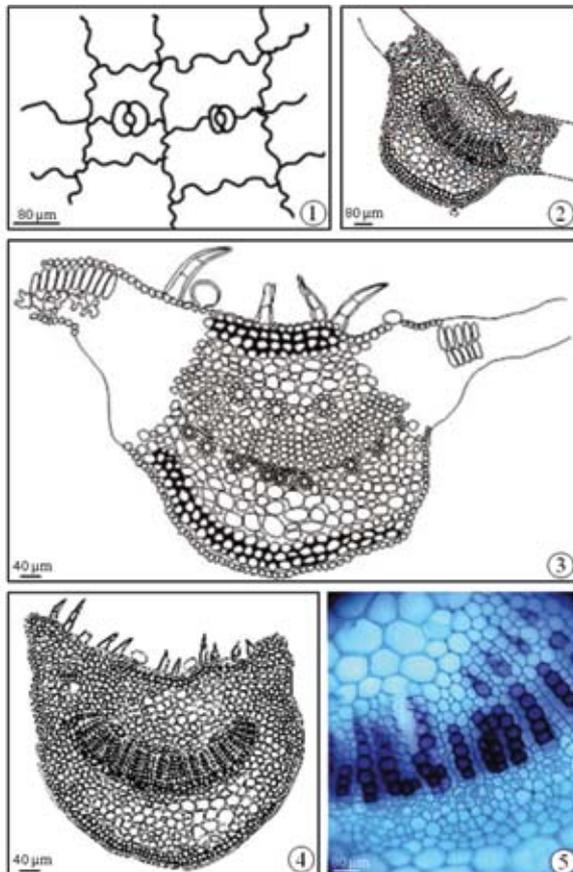




O feixe vascular colateral se apresenta em formato de arco raso aberto; e os elementos de vaso do metaxilema e protoxilema estão enfileirados (figura 5), com raios parenquimáticos, formados por 1 a 2 fileiras de células, em intervalos regulares (figura 5), com poucas fibras esclerenquimáticas.

As características observadas de modo geral são muito semelhantes àquelas descritas por (Costa et al., 2009), para *Ocimum gratissimum*, e de Duarte e Lopes (2007), para *Plectranthus neochilus*. Segundo Metcalfe e Chalk (1979), a estrutura vascular do pecíolo também apresenta importância taxonômica.

**Figuras 1-5. Secções foliares de *Ocimum basilicum* L. 'Genovese'. 1 – vista frontal da epiderme da face abaxial evidenciando os estômatos diacíticos; 2 a 5 – secções transversais, 2 - limbo; 3 – nervura central; 4 – pecíolo; 5 – detalhe do feixe vascular do pecíolo.**



## Considerações Finais

As comparações das descrições anatômicas obtidas ficam comprometidas, pois não foram encontradas referências específicas sobre a espécie *Ocimum basilicum* L. "Genovese". O conjunto de caracteres

anatômicos observados no presente trabalho complementam as informações para a espécie *Ocimum basilicum*, descrevendo dados inéditos para *Ocimum basilicum* L. "Genovese". Isto possibilita uma diagnose mais acurada e eficiente desta cultivar. A atribuição da relevância desses caracteres, como valor taxonômico para este cultivar, requer estudos estruturais adicionais, relativos a uma investigação ultraestrutural em microscopia eletrônica de varredura da superfície e a comparação com outras cultivares e variedades de *Ocimum basilicum* L.

## Referências Bibliográficas

Blank, A. F.; Souza, E. M.; Paula, J. W. A.; Alves, P. B. 2010 - Comportamento fenotípico e genotípico de populações de manjeriço. *Horticultura Brasileira*, v.28, p. 305-310.

Costa, V. B. S.; Corrêa, P. G.; Dutra, M.; Chagas, M. G. S.; Pimentel, R. M. M. 2009 - Anatomia da folha e do caule de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) sob condições naturais. IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Darrah, H. H. 1974 - Investigation of the cultivars of the basil (*Ocimum*). *Economic Botany*, v.28, p.63-7.

Deschamps, C.; Zanatta, J. L.; Roswalka, L.; Oliveira, M. C.; Bizzo, H. R.; Alquini, Y. 2006 - Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquática* L. *Ciência e Natura*, v.28, p. 23-34.

Duarte, M. R.; Lopes, J. F. 2007 - Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, p. 549-556.

Ehlert, P. A.; Blank, A. F.; Camêlo, L. C.; Alves, P. B.; Menezes, A. P. P. 2006 - Variação química de seis genótipos de manjeriço no Estado de Sergipe. 46º Congresso Brasileiro de Oleicultura: diversificação e industrialização na horticultura, Goiás.

Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil. 1929. Companhia Editora Nacional. São Paulo:

Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil. 1959. 2. ed. Siqueira. São Paulo.

Hay, K. M.; Svoboda, K. P. 1993 - Botany. In: Hay, K. M., Waterman, P. G. *Volatile oil crops: their biology, biochemistry, and production*. Longman, Scientific & Technical, Harlow.

Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. Mc Graw Hill. New York.





- Kraus, J. E.; Arduim, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR-Editora Universidade Rural. Seropédica.
- Labra, M.; Miele, M.; Ledda, B.; Grassi, F.; Mazzei, M.; Sala, F. 2004 - Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. *Plant Science*, v.167, p. 725-731.
- Leite, J. P. V.; Pimenta, D. S.; Gomes, R. S. D. L.; Dantas-Barros, Q. M. 2007 - Contribuição ao estudo farmacobotânico da *Echinodorus macrophyllus* (Kunth) Micheli (chapéu-de-couro) - Alismataceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, p. 242-248.
- Luque, R.; Sousa, H. C.; Kraus, J. E. 1996 - Métodos de coloração de Roeser (1972) – modificado – e Kropp (1972) visando a substituição do azul de Astra por azul de Alciano 8GS e 8GX. *Acta Botanica Brasileira*, v. 10, p. 199-212.
- Martins, M. B. G. 2002 - Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata x suaveolens* (Lamiaceae). *Bragantia*, v.61, p. 205-218.
- Martins, J. R.; Alvarenga, A. A.; Castro, M. C.; Silva, A. P. O.; Oliveira, C.; Alves, E. 2009 - Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivados sob malhas coloridas. *Ciência Rural*, v.39, p. 82-87.
- Mentz, L. A.; Bordignon, S. A. L. 2004 - Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E.P.; Gosman, G.; Palazzo de Melo, J.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. (orgs). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, p. 211-227. Editora da UFRGS/Editora da UFSC. Porto Alegre/Florianópolis.
- Metcalfe, C. R.; Chalk, L. 1979. *Anatomy of the dicotyledons*. vol. 1. 2. ed. Clarendon Press. Oxford.
- Ogunkunle, A. T. J.; Oladele, F. A. 1997 - Stomatal Complex types in some nigerian species of *Ocimum* L., *Hyptis* Jacq. and *Tinnea* Kotsch and Peyr (Lamiaceae). *Bioscience Research Communications*, v.9, p. 93-100.
- Olowokudejo, J. D.; Pereira-Sheteolu, O. 1988 - The taxonomic value of epidermal characters in the genus *Ocimum* (Lamiaceae). *Phytomorphology*, v.38, p. 147-158.
- Purvis, M.; Collier, D. C.; Walls, D. 1964. *Laboratory techniques in botany*. Butterwoths. London.
- Satil, F.; Kaya, A. 2007 - Leaf anatomy and hairs of Turkish *Satureja* L. (Lamiaceae). *Acta Biologica Cra-coviensia, Series Botanica*, v.49, p. 67-76.
- Satil, S.; Ünal, M.; Hopa, E. 2007 - Comparative morphological and anatomical studies of *Hymenocrate bituminosus* Fisch. & C.A. Mey. (Lamiaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, v.31, p. 269-275.
- Toledo, M. G. T.; Alquimi, Y.; Nakashima, T. 2004 - Caracterização anatômica das folhas de *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.40, p. 487-493.
- Werker, E.; Putievsky, E.; Ravid, U.; Dudai, N.; Katzir, I. 1993 - Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Annals Botany*, v.71, p.43-50.
- Xifreda, C. C.; Mallo, A. C. 2006 - El género *Cunila* (Lamiaceae, Mentheae) em Argentina. *Darwiniana*, v.44, p. 298-308.
- Youngken, H. W. 1951. *Tratado de Farmacognosia*. Editorial Atlante. Cidade do México.

**Recebido em outubro de 2012. Aceito em Janeiro de 2013**

