

NÚMERO CROMOSSÔMICO DE *Ocimum basilicum* L. CULTIVAR GENOVESE

MARCOS ROBERTO FURLAN¹
ELISA MITSUKO AOYAMA²

RESUMO

O estudo do número cromossômico constitui um dos parâmetros mais utilizados na caracterização citológica de uma espécie, podendo, inclusive, ter implicações na identificação de cultivares. O presente trabalho teve por objetivo a determinação do número cromossômico de *Ocimum basilicum* L. cultivar 'Genovese'. A pesquisa, realizada no Laboratório de Citogenética do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade de Taubaté-SP, utilizou sementes de *Ocimum basilicum* cv Genovese procedentes da Itália. Após 24 horas da germinação, pontas das radículas foram coletadas e imersas em solução de 8-hidroxiquinoleína 0,002 molar, fixadas em solução Carnoy por 24 h, e conservadas em álcool 70%. No preparo das lâminas, utilizou-se a técnica do esmagamento e coloração com Giemsa 2%. O número cromossômico encontrado para a espécie *Ocimum basilicum* cultivar Genovese foi $2n=48$.

Palavras chave: cromossomos mitóticos, Lamiaceae, manjerição, planta aromática, planta medicinal.

ABSTRACT

The study of chromosome number assumes the role as a restriction commonly used in cytological characterization of a species, and may also have implications for cultivar identification. The present research aims at determining the chromosome number of *Ocimum basilicum* L. cultivar 'Genovese'. The study, conducted in the Cytogenetics Laboratory, Department of Agricultural Sciences, University of Taubaté, Taubaté-SP city, used seeds of *Ocimum basilicum* cv Genovese imported from Italy. After 24 hours of germination, the root-tips were collected and pre-treated with a solution of 2mM 8-hydroxyquinoline, fixed in Carnoy solution for 24 h and preserved in alcohol 70%. The roots were hydrolyzed in 1N HCl at 60 ° C for 8 to 12 minutes, and the slides, prepared by squashing the root-tips in acetic acid (45%) and stained with 2% Giemsa. The chromosome number found for the *Ocimum basilicum* cultivar Genovese was $2n = 48$.

Keywords: mitotic chromosomes, Lamiaceae, basil, aromatic plant, medicinal plant

¹ Departamento de Ciências Agrárias, Universidade de Taubaté – UNITAU, Rua 4 de março, 432, Centro, 12020-270, Taubaté, SP, Brasil, furlan@hotmail.com. Autor para correspondência.

² 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, elisaoyama@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

O gênero *Ocimum* L., pertencente à família Lamiaceae, compreende espécies aromáticas de grande importância econômica, pois são fontes naturais de óleos essenciais usados em perfumes, fitoterápicos, cosméticos e como condimentos (KHOSLA; SOBTI, 1985). O número de espécies citado para o gênero é bastante divergente entre os autores, variando de 50 a 60 (BAILEY, 1949), a aproximadamente 160 (SOBTI; PUSHANGADAN, 1982; KHOSLA; SOBTI, 1985; SAJJADI, 2006).

Ocimum basilicum L. é considerada, em muitos países, como a espécie de maior valor econômico para a produção de óleo essencial (SAJJADI, 2006), e pesquisas comprovam as suas ações antimicrobiana e antioxidante (SARTORATOTTO et al., 2004; POLITEO et al., 2007). Grieve (1971) afirma que há muitas variedades do gênero e com diferenças nas cores, formas, tamanhos e odores, sendo que Darrah (1974) observou que a poliploidia contribui para outras variantes morfológicas. Pushpangadan et al. (1975) citam que o gênero é altamente polimórfico e que a frequente hibridação intervarietal resulta em muita variação, tornando a nomenclatura mais complexa.

O polimorfismo do manjeriço é responsável pela inúmera quantidade de espécies e variedades (von HERTWIG, 1991; TEIXEIRA et al., 2000), e Bisset (1994), cita que há várias raças (ou subespécies ou quimiotipos). Há numerosas variedades ou formas cultivadas que se diferenciam pelo tamanho e pela cor das folhas, flores, inflorescência, assim como pelo aroma de suas folhas e ramos (FUENTES; GRANDA, 1997).

Simon (1990) observa que a diversidade na pigmentação, na forma, no tamanho da folha e na pubescência, dentro das espécies de *Ocimum*, tem se acentuada por séculos de cultivo. O autor afirma também, no mesmo artigo, que a identificação é dificultada pela existência de quimiotipos ou raças químicas dentro da espécie e que não se diferem significativamente na morfologia.

A análise cromossômica é uma importante ferramenta para a observação da variabilidade genética, já que o número cromossômico pode variar dentro de um mesmo

táxon ou entre táxons (GUERRA, 1986; GRIFFITHS et al., 2002). Segundo Carvalho et al. (2009), o estudo citogenético em espécies de importância econômica pode contribuir de forma significativa nas etapas que antecedem os cruzamentos de linhagens parentais nos programas de melhoramento genético.

Esses dados podem ser relevantes nos programas de melhoramento de uma determinada planta/espécie, contribuindo na pré-seleção de linhagens progenitoras ou ainda determinando o percentual de genomas parentais nos indivíduos híbridos. Dessa forma, a indicação de parentais favoráveis a hibridações pode ser auxiliada pelo uso de parâmetros citogenéticos (CARVALHO et al., 2009).

O presente estudo teve por objetivo a determinação do número de cromossomos mitóticos de *Ocimum basilicum* L. cultivar Genovese e foi realizado no Laboratório de Citogenética do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade de Taubaté –SP.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes de *Ocimum basilicum* cv Genovese procedentes da Itália. Após 24 horas da germinação, em placas de Petri, com papel de filtro úmido e em condições ideais de temperatura e luminosidade, as pontas das radículas foram coletadas. A coleta foi realizada no maior pico de divisão mitótica, de 8h30miN a 9h30 min. As radículas, com 1,0 a 1,5 cm de comprimento, foram imersas em solução de 8-hidroxiquinoleína 0,002 M durante 4 horas a 18°C e mantidas neste ambiente, mas no escuro.

A fixação foi feita com solução Carnoy 3:1, v/v, (etanol absoluto: ácido acético glacial, respectivamente) por 24 horas. Após este período, o material foi transferido para solução de álcool 70% e armazenado em geladeira a 8°C até o momento das preparações citológicas. As radículas foram hidrolisadas em HCl 1,0 M a 60°C, durante 8 a 12 minutos. Após esse processo, o material foi colocado rapidamente em água gelada.

Para desprendimento das células, foi retirada, com o auxílio de uma lâmina de barbear, a ponta da raiz onde se encontra a região meristemática. Colocou-se o material sobre uma lâmina contendo uma gota de ácido acético 45% e, em seguida,

cobriu-se com uma lamínula, e depois foi feito o esmagamento com o dedo polegar, estando a lâmina e a lamínula entre papéis de filtro. Em seguida, a lâmina foi levada para o freezer, por período de 3 minutos. Retirou-se a lamínula e colocou-se a lâmina para secar em local livre de pó.

Depois de secas, lâminas e lamínulas foram coradas com Giemsa 2%, por 5 minutos. Depois, foram lavadas em água de torneira, para retirar o excesso de corante das células e, novamente, colocadas para secar.

As lâminas foram montadas com entellan, e a análise dos cromossomos feita por imagem em Cytoscan, software PSI, no Laboratório de Citogenética do Hospital das Clínicas, em São Paulo-SP.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a contagem dos cromossomos e a montagem de cariótipo mitótico, as metáfases analisadas em *O. basilicum* cultivar Genovese apresentaram número cromossômico diplóide $2n=48$ cromossomos (figura 1), mesmo valor encontrado por Pushpangadan et al. (1975) para as variedades *O. basilicum* var. *minima*, *O. basilicum* var. *glabratum*, *O. basilicum* var. *thyrsoiflora* e *O. basilicum* var. *purpurascence*.

Em pesquisas realizadas com outros cultivares ou variedades, também foram verificados números cromossômicos $2n=48$ (PUSHPANGADAN et al., 1975; SOBTI; PUSHPANGADAN, 1982). No entanto, Paton e Putievsky (1996) relataram números cromossômicos variando entre as variedades analisadas, de $2n=52$ a $2n=74$. Oliveira et al. (1998) relataram, sem indicar o cultivar ou variedade, número cromossômico $2n=54$ para a espécie *O. basilicum*.

Paton e Putievsky (1996) observam que as espécies mais importantes do gênero *Ocimum* devem ser tipificadas com extrema precisão, para evitar confusões na literatura.

Segundo Stace (1991), as informações sobre cromossomos são relevantes em estudos sistemáticos e evolutivos, abrangendo desde simples contagens até a caracterização cromossômica por técnicas citomoleculares.

Dessa forma, é relevante, por meio do exposto, ressaltar que existem lacunas a serem preenchidas no que diz respeito aos estudos citogenéticos de cultivares de *O. basilicum*, sendo que novas contribuições poderão facilitar o entendimento das diferenças entre esses cultivares, auxiliando na identificação correta dos mesmos.

REFERÊNCIAS

BAILEY, L.H. **Manual of Cultivated Plants**: most commonly grown in the continental United States and Canada. New York: The Macmillan Company, 1949. 865p.

BISSET, N.G. (ed.). **Herbal drugs and phytopharmaceuticals**: a handbook for practice on a scientific basis. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. 486 p.

CARVALHO, R., SILVA, K.V.P., OLIVEIRA, I.F., ALVES, A.A.C. Citogenética como ferramenta para o melhoramento genético vegetal: análise mitótica e meiótica em espécies de *Manihot*. In: XIII Congresso Brasileiro de Mandioca, 2009, Botucatu, SP. **Resumos...** Botucatu: Centro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT/UNESP), 2009. p. 645-650.

DARRAH, H.H. Investigation of the cultivars of the basil (*Ocimum*). **Economic Botany**, New York, n.28, p.63-67, 1974.

FUENTES, V., GRANDA, M. **Conozca las plantas medicinales**. Ciudad de La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1997. 244 p.

GRIEVE, M. **Culinary Herbs and Condiments**. New York: Dover Publications, 1971. 209 p.

GRIFFITHS, A.J.F., MILLER, J.H., SUZUKI, D.T., LEWONTIN, R.C., GELBART, W.M. **Introdução a Genética**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 794p.

GUERRA, MS. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.9, n.4, p.741-743, 1986.

KHOSLA, M.K., SOBTI, S.N. Karyomorphological studies in genus *Ocimum* II. Sanctum group. **Citologia**, Tokyo, n.50, p.253-263, 1985.

OLIVEIRA, A.L.P.C., ASSIS, J.G.A.A., GUEDES, L.S., BARRETO, E.C. Número de cromossomos de 5 espécies de *Ocimum* (Labiatae). In: Encontro de Genética do Nordeste, 2, 1998, Feira de Santana. **Resumos...**Feira de Santana: Sociedade Brasileira de Genética-- Regional Bahia, 1998. p.328.

PATON, A., PUTIEVSKY, E. Taxonomic problems and cytotoxic relationship between and within varieties of *Ocimum basilicum* and related species (Labiatae). **Kew Bulletin**, Kew, v.51, n.3, p.509-524, 1996.

POLITEO, O., JUKIC, M., MILOS, M. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. **Food Chemistry**, Oxford, v.101, n.1, p.379-385, 2007.

PUSHPANGADAN, P., SOBTI, S. N., KHAN, R. Karyomorphological studies in genus *Ocimum* I. Basilicum group. **The Nucleus**, Karachi, v.18, n.111, p.177-182, 1975.

SAJJADI, S.E. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. **Daru**, v.14, n.3, p.128-30, 2006.

SARTORATOTTO, A., MACHADO, A.L.M., DELARMELENA, C., FIGUEIRA, G.M., DUARTE, M.C.T., REHDER, V.L.G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.35, p.275-280, Oct./Dec. 2004.

SIMON, J.E. Essential oils and culinary herbs. Aromatic, spice, medicinal, and bioactive plants. In: JANICK, J., SIMON, J.E. (eds.). **Advances in new crops: proceedings of the First National Symposium NEW CROPS**, Research, Economics. Indianapolis, Portland, Oregon: Timber Press, 1990. 560 p.

SOBTI, S.N., PUSHPANGADAN, P. Studies in the Genus *Ocimum*: cytogenetics, breeding and production of new strains of economic importance. In: ATAL, C.K., KAPUR, B.M. (eds.). **Cultivation and utilization of aromatic plants**. Jammu-Tawi Índia: Regional Res. Lab., 1982. 801 p.

STACE, C.A. **Plant taxonomy and Biosystematics**. 2nd. Cambridge: University Press, 1991. 264p.

TEIXEIRA, J.P.F., MARQUES, M.O.M., FURLANI, P.R., FACANALLI, R. Óleo essencial de duas variedades de manjeriço em cultivo hidropônico. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v.18, suplemento especial, p.982-983, 2000.

VON HERTWIG, I.F. **Plantas aromáticas e medicinais:** plantio, colheita, secagem, comercialização. 2 ed. São Paulo, Ícone, 1991. 414 p.