



BIOLOGIA FLORAL E MECANISMOS REPRODUTIVOS DE *OCIMUM SELLOI* BENTH. (LAMIACEAE)

Caroline Cambraia Furtado Campos

Rute Maria Ribeiro; Rosângela Alves Tristão Borém; Jaqueline Fidelis Duarte; Larissa Garcia Ferreira

Universidade Federal de Lavras - Departamento de Biologia, CP 3037 CEP.37200000 - Lavras - MG. E - mail: carol.cambraia@yahoo.com.

INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os países de maior biodiversidade do planeta, e um grande número de suas espécies vegetais possui propriedades terapêuticas, sendo utilizadas por uma parte significativa da população. Entretanto, mesmo com o aumento dos estudos da ecologia dessas espécies, ainda existe uma gama de espécies a serem estudadas.

Entre as plantas medicinais de grande importância encontra-se o alfavaquinho (*Ocimum selloi* Benth.) também conhecida popularmente como Elixir - Paregórico ou Atroveran, planta da família Lamiaceae que ocorre freqüentemente nas Regiões Sudeste e Sul do país (Martins, 1998).

A espécie é um subarbusto perene e possui largo uso popular como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório (Lorenzi et al., 2003), além da ação comprovada como repelente de insetos (Paula et al., 2003).

A biologia floral, os padrões de floração e sistema reprodutivo mescla-se à ecologia da polinização, relacionando a diversidade floral à diversidade do comportamento e da morfologia dos animais visitantes e polinizadores, bem como demonstrando a interdependência desses, uma vez que, a maioria das plantas dependem dos agentes de polinização para a sua reprodução sexuada, e os recursos florais constituem as principais fontes de alimento para diversos grupos de animais (Proctor et al., 1996).

Os estudos sobre interações planta - polinizador são importantes para auxiliar pesquisas desenvolvidas em diversas áreas, tais como sistemática e filogenia vegetal, biologia evolutiva e da adaptação, ecologia de populações, biologia reprodutiva e biologia da conservação.

OBJETIVOS

Dessa forma este trabalho teve como objetivo descrever alguns aspectos da biologia floral de *Ocimum selloi* Benth. avaliando seu sistema de reprodução e comparando sua morfologia floral com outras espécies do gênero, bem como estudar sua germinação e observar e identificar seus principais visitantes florais da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição da área - O experimento foi conduzido no Horto de Plantas Medicinais “Ervas & Matos” da Universidade Federal de Lavras, localizado no município de Lavras, sul de Minas Gerais, entre as coordenadas de 21°14' de latitude sul e 45°00' de longitude oeste, em uma altitude média de 900 metros. O solo predominante na área foi classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico, textura argilosa, com topografia ondulada e boa drenagem. Os testes de germinação foram realizados no Laboratório de Fisiologia Vegetal, no Departamento de Biologia da UFLA.

Amostragem

O estudo foi desenvolvido quanto aos seguintes aspectos: determinação do sistema reprodutivo da espécie, aspectos da germinação e registro dos insetos visitantes mais freqüentes no período de floração. Além disso, foram registrados aspectos da biologia floral quanto à viabilidade polínica, receptividade do estigma e comparação da espécie com demais plantas do gênero.

Polinização - 350 botões foram isoladas antes da antese das flores, com sacos de organza de “nylon”, tendo-se o cuidado de ao se isolar os botões não haver nenhum tipo de visitante. Devido à diferença de maturação-já que a antese das flores não ocorre ao mesmo tempo em uma inflorescência-e disposição da flor, foi marcada com barbante o botão que seria verificado. Foram marcadas com barbante 350 botões para controle e verificação da eficácia da polinização natural.

Em volta do ramo, onde é preso o saco de organza, foi colocado um “anel” de espuma para não haver constrição dos vasos condutores.

Viabilidade dos Grãos de Pólen - Esse parâmetro foi analisado com os grãos de pólen retirados das anteras provenientes de flores de 10 indivíduos diferentes, corados com carmim acético, segundo a técnica de Kearns e Inouye (1993), em diferentes estádios de desenvolvimento floral, para posterior observação sob microscópio de luz.

Disponibilidade dos Grãos de Pólen-A disponibilidade polínica foi obtida por meio da contagem dos grãos de pólen após a deiscência das anteras.

Receptividade do Estigma - Esse parâmetro foi verificado pelo aspecto viscoso e umectante dos estigmas (Almeida, 1986) e testado utilizando peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3% visando verificar a presença de catalase, ressaltando - se que as flores foram observadas nos estádios de pré - antese, antese e pós - antese, sendo a presença de catalase notada por efervescência dos estigmas em contato com o H₂O₂, indicadora da receptividade.

Germinação-Foi utilizado para verificar a produção de sementes com embrião viável provenientes de flores isoladas do ambiente ou não. Para isso, após a formação e maturação dos frutos, as sementes foram coletadas, quantificadas.

Para a montagem dos testes de germinação, as sementes foram lavadas em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) 2 % durante três minutos e embebidas em nitrato de potássio a 0,2% para quebra de dormência, segundo métodos descritos pelas Regras de Análise de Sementes.

Foram realizados 2 tratamentos (flores isoladas e não isoladas) com 8 repetições constituídas por 25 sementes cada. As sementes foram colocadas em placas de Petri previamente esterilizadas, forradas com papel mata - borrão e umedecidas com água destilada. Para evitar o desenvolvimento de fungos foi pulverizada uma solução de Nistatina a 1 % no interior das placas, sobre as sementes (Machado, 2002). Posteriormente, foram levadas à B.O.D. onde ficaram sob fotoperíodo de 24h e temperatura alternada de 20 e 30 oC ± 1. As observações foram realizadas diariamente para verificar a ocorrência de germinação.

Visitantes Florais - As observações relativas aos visitantes florais foram realizadas no campo, no período entre 07h30min e 19h, sendo verificados o comportamento de forrageamento, horário, frequência e duração das visitas. Os espécimes - testemunho foram coletados com rede entomológica, e depositados em câmaras mortíferas para posterior determinação taxonômica por especialistas do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras.

Análise estatística - O experimento foi instalado segundo um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com oito repetições segundo a análise de Kruskal - Wallis. A parcela foi constituída por 25 sementes de *O. selloi*, em que foram verificando - se a porcentagem de germinação. Os tratamentos foram as sementes isoladas e não isoladas, sendo a parcela constituída por 25 sementes de *O. selloi*. O modelo estatístico que descreve os dados é descrito como se segue: $y_{ij} = \mu + a_i + e_{ij}$. Os dados foram submetidos à análise de variância não paramétrica utilizando rotinas do software R® (2007), por meio do teste de Kruskal - Wallis a 5 % de significância, uma vez que as pressuposições de homocedasticidade e normalidade não foram atendidas.

RESULTADOS

A antese de *O. selloi* ocorreu entre 11:00 e 12:00 h diferente da observada para outras espécies do gênero como *O. canum* que ocorreu entre 9:00 e 10:00 h, e em *O. officinalis* entre 9:30 e 10:30 h em observações realizadas por Brasileiro & Amaral (2007).

As flores não se abrem de maneira sincrônica na inflorescência, razão pela qual, em uma mesma planta, são en-

contradas flores em diferentes fases de desenvolvimento no decorrer de um dia.

A alteração na cor da corola e das anteras de *O. selloi*, levemente amarronzadas com o passar do tempo, pode indicar a redução da disponibilidade do recurso, semelhante ao observado *O. canum* (Silva *et al.*, 008).

A viabilidade polínica foi de 97%, resultado semelhante ao encontrado por Brasileiro & Amaral (2007), que obtiveram 98%, para a mesma espécie. O processo de polinização artificial pode ser realizado na pré - antese, pois os estigmas encontram - se receptivos e os grãos de pólen possuem alta viabilidade.

Ao contrário dos resultados obtidos por Sobti e Pushpangadan (1982), a espécie de *Ocimum* estudada é protogínica, pois os estigmas encontravam - se receptivos antes da deiscência das anteras, com cerca de 90% de receptividade em todas as espécies, o que favorece a autopolinização, pois a deiscência das anteras também ocorre na pré - antese.

A disponibilidade polínica obteve uma média de 6.457 polens na antese, resultado contrastante com os obtidos por Almeida *et al.*, (2004) para *O. officinalis* que foi de 8287 polens na antese, sendo que esta disponibilidade diminui ao longo dos diferentes estádios florais.

O fruto é do tipo tetraquênios, produzindo um número máximo de quatro sementes pequenas, pretas e oblongas.

O estudo de germinação das sementes constatou que em alternância de temperatura a 20 oC e 30 oC e de iluminação, após 4 dias à instalação do experimento, obteve - se uma protrusão da radícula e 10 dias formação das primeiras folhas para os dois métodos utilizados. Observou - se que a espécie é não fotoblástica ou indiferente, pois respondeu bem a ausência e presença de luz.

O tempo médio de germinação (t_{-}) é um indicativo da velocidade do processo germinativo e pode ser usado conforme o proposto por Ferreira *et al.*, (2001), e os resultados obtidos neste estudo para o tempo de germinação mostraram que a espécie apresenta uma germinação rápida.

A taxa de germinação foi de 43,5% para os indivíduos isolados e de 39% para não isolados, inferindo - se assim que a espécie caracteriza - se como autógama com possibilidade de reprodução mista.

A porcentagem de sementes não germinadas pode ser devido a uma estratégia da planta em entrar em dormência para que não sejam gastos todos seus recursos em um único período, evitando assim que certa espécie corra risco de entrar em extinção. No decorrer da maturação a dormência das sementes é uma estratégia das plantas para evitar a germinação na própria planta antes que ocorra a dispersão das mesmas (Simão *et al.*, 007).

A partir da análise de variância por postos de Kruskal - Wallis verificou - se que não houve diferença significativa no percentual de germinação de *O. selloi* entre os isolados e não isolados (valor - p > 0,05), o que comprova a hipótese de autogamia.

Entretanto Nation *et al.*, 1992) em estudos com espécies do gênero *Ocimum* concluíram que algumas espécies podem possuir sistema de reprodução misto, podendo se reproduzir tanto por autogamia quanto por alogamia, sendo que o sistema de reprodução misto é predominante.

A autogamia permite a formação de sementes sem que haja necessidade de polinizadores (Parteniani, 1974). Assim, devido à ocorrência de autogamia, pode - se inferir que a espécie *O. selloi* é autocompatível, sendo alta a viabilidade das sementes originadas por autopolinização. Resultado semelhante foi obtido por Almeida *et al.*, (2004) para *O. officinales*. Esta autogamia ainda poderia provocar uma redução na frequência das formas heterozigóticas e, conseqüentemente, aumento na proporção dos tipos homozigóticos, favorecendo a geração de linhagens para produção de híbridos (Allard, 1999), além, de permitir a formação de sementes sem que haja necessidade de polinizadores (Parteniani, 1974; Cardoso, 2007).

De acordo com Sobti e Pushpangadan (1982) espécies do gênero *Ocimum*, além de serem autocompatíveis, são alocompatíveis, pois cruzamentos interespecíficos resultam em híbridos férteis, a exemplo de *O. kilimandscharicum* x *O. americanum* e *O. gratissimum* x *O. sanctum*. A alogamia possibilita a manutenção ou o aumento do vigor híbrido das espécies pela ocorrência de novas combinações de genes codificadores de caracteres de interesse agrônomo (Parteniani, 1974), como por exemplo, a produção de óleos essenciais que, por serem amplamente utilizados pelas indústrias farmacêuticas, têm alto valor no mercado nacional e internacional (Nation *et al.*, 1992).

Na pré - antese, o cálice envolve todo o botão floral, não oferecendo, portanto, possibilidade de acesso a nenhum agente polinizador, o que, segundo Almeida (1986), pode indicar autofecundação ou autogamia. Ocorre ainda nesse estágio, a liberação dos grãos de pólen e a deposição destes sobre o estigma, que já se encontra receptivo, embora a flor permaneça fechada. Portanto, acontece, a polinização, mas não a germinação dos grãos de pólen fato também observado para *O. canum* por Silva *et al.*, (2008).

O potencial polinizador se encontra na família Apidae e o horário de maior visitação se encontra no período de 9 as 11 e de 13 as 15 horas onde houve o predomínio de alternância de luz e sombra.

As flores de *O. selloi* apresentam atributos florais relacionados à síndrome floral de melitofilia (Faegri e Van Der Pijl, 1980), tais como corola pouco tubulosa, odor doce, pequena distância entre a câmara nectarífera e os verticilos férteis e antese diurna.

Os insetos que visitam as flores de *O. selloi* são de hábito diurno e não apresentam a mesma regularidade nas visitas. Dentre eles, destacam - se *Apis mellifera*, que é considerado o polinizador mais comum do gênero *Ocimum* (Darrach, 1974).

A. mellifera, está presente na população de *O. selloi* bem como na de *O. officinalis* durante vários meses do ano, pousando, em cada visita, em várias flores, permanecendo nelas de 5 a 10 segundos como demonstra o trabalho realizado por Almeida *et al.*, (2004). Sendo que após o pouso na corola, introduz a cabeça no tubo, o que lhe facilita o contato do aparelho bucal com o disco nectarífero. Ao fazer esse movimento em busca do néctar, a abelha pressiona as pétalas para baixo, balançando os estames de modo que o pólen se disperse, aderindo - se ao seu corpo.

O inseto, ao visitar outra flor, deixa o pólen, aleatoriamente, em seu estigma. As flores, embora cleistogâmicas, recebem,

normalmente, pólen exógeno por meio dos polinizadores. Um bom polinizador visita grande número de plantas de uma mesma espécie, transportando, por sua vez, numerosos grãos de pólen em seus pêlos ramificados, requisito este que faz da *A. mellifera* um importante vetor de pólen para *O. selloi* bem como para *O. officinalis*, em estudo demonstrado por Almeida *et al.*, (2004) garantido elevada produção de sementes e assegurando variabilidade genética da espécie.

Observou - se também, durante o experimento, a presença de formigas por todo o vegetal. Elas se deslocam aleatoriamente por todo o indivíduo, muito raramente chegam até as flores e, quando o fazem, limitam - se a percorrer as pétalas, sem causar - lhes danos. A fauna de formigas associada com a planta é formada por cinco espécies, sendo *Solenopsis sp.* mais freqüente no período diurno, e *Camponotus lespesi* no período vespertino e noturno.

Insetos das famílias Sirphidae, Asilidae e Muscidae apresentaram visitantes, porém em baixa quantidade.

CONCLUSÃO

Conclui - se que a espécie *O. selloi* apresenta sistema sexual autógamo com tendência a misto. A mudança de coloração das pétalas e sementes está relacionada ao início da fase de senescência e do ponto de maturação fisiológica. As sementes possuem dormência após a maturação fisiológica. A análise de visitantes florais mostrou que os principais foram insetos da família Apidae. Os recursos alimentares oferecidos aos visitantes florais e polinizadores são o grão de pólen das anteras e provavelmente néctar.

(Agradecimento especial a CAPES pelo financiamento de bolsa ao primeiro autor.)

REFERÊNCIAS

- Allard, R. W. 1999. Principles of Plant Breeding. John Wiley & Sons, New York, 254p.
- Allard, R. W. 1971. Sistemas reprodutivos e métodos de melhoramento de plantas. In: Princípios do melhoramento genético de plantas. Rio de Janeiro: Edgard Blucher, cap. 4: 25 - 40.
- Almeida, E. C. de. 1986. Biologia floral e mecanismos de reprodução em *Crotalaria mucrota*, Revista Ceres, Viçosa, 33 (190): 528 - 540.
- Almeida, O. S.; Silva, A. H. B.; Silva, A. B.; Silva, A. B.; Amaral, C. L. F. 2004. Estudo da biologia floral e mecanismos reprodutivos do alfavação (*Ocimum officinalis* L.) visando o melhoramento genético. Acta Scientiarum. Maringá, 26(3): 343 - 348.
- Brasileiro, B. P.; Amaral C. L. F. 2007. Caracterização do sistema reprodutivo de acessos de *ocimum spp.* (Lamiaceae) do banco de germoplasma de plantas medicinais da UESB - Bahia, Brasil. Magistra, Cruz das Almas - BA, 19(4): 333 - 336.
- Cardoso, A. I. I. 2007. Produção de pimentão com vibração das plantas. Ciência Agrotécnica, 31: 1061 - 1066.
- Darrach, H. H. 1974. Investigations of the cultivars of basilis (*Ocimum*). Economic Botanic, New York, 28: 63 - 67.

- Faegri, K.; Van der pijl, L. 1980. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, Oxford, USA, 291pp.
- Ferreira, A.G.; Cassol, B.; Rosa, S.G.T.; Silveira, T.S.; Stival, A.L. & Silva, A.A. 2001. Germinação de sementes de Asteraceae nativas do Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Botanica Brasílica* 15: 231 - 242.
- Kearns, C. A.; Inouye, D.W. 1993. *Techinques for pollination biologists*. Niwot: University Press of Colorado.
- Lopez, J.; Rodriguez - Riafio, T.; Ortegaolivencia, A.; Devesa, J. A.; Ruiz, T. 1999. Pollination mechanisms and pollen - ovule ratios in some Genisteae (Fabaceae) from southwestern Europe. *Plant Systematics and Evolution* 216: 23 - 47.
- Lorenzi, H.; Matos, F.J.A. 2003. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa, Instituto Plantarum.
- Machado, C.F.; Oliveira, J.A. de; Davide, A.C. & Guimarães, R.M. 2002. Metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de ipê - amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson). *Cerne* 8(2): 17 - 25.
- Martins, E. R. *et al.*, 1994. *Plantas Mediciniais*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.
- Nation, G. R. *et al.*, 1992. Estimation of outcrossing in basil. *HortScience, Alexandria*, 27(11): 1221 - 1222.
- Paterniani, E. 1974. Evolução dos sistemas reprodutivos dos vegetais. *Ciência Cultural, São Paulo*, 26 (5): 476 - 481.
- Paula, J.P.; Gomes - Carneiro, M.R.; Paumgartten, F.J.R. 2003. Chemical composition, toxicity and mosquito repellency of *Ocimum selloi* oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 253 - 260.
- Proctor, M.; Yeo, P. & Lack, A. 1996. *The natural history of pollination*. Harper Collins Publishers, London.
- R Development Core Team. 2007. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3 - 900051 - 07 - 0, URL Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 28 julho 2007.
- Silva, A. B; Souza, M. F.; Silva, A. H. B, DA; Almeida, O. S.; Silva, A. B. DA; Amaral, C. L. F. 2008. Biologia floral e mecanismos reprodutivos de *Ocimum canum* Sims (Lamiaceae). *Biotemas*, 21(2): 33 - 40.
- Simão, E.; Nakamura, A.T.; Takaki, M.. 2007. Época de colheita e capacidade germinativa de sementes de *Tibouchina mutabilis* (Vell.) Cogn. (Melastomataceae). *Biota Neotropica*, 7(1). Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v7n1/pt/abstract?article+bn0>>. (acessado em: 4/06. 2008).
- Sobti, S.; Pushpangadan, P. 1982. 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. p. 457 - 472.