

Revista Cubana de Plantas Medicinales, Vol. 22,
Núm. 4 (2017)

ARTÍCULO ORIGINAL

Inibição do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos pela óleosina de *Copaifera reticulata* Ducke (copaíba)

Inhibición del crecimiento *in vitro* de los micelios de fitopatógenos con oleoresina de *Copaifera reticulata* Ducke (copaíba)

Inhibition of *in vitro* growth of the mycelia of phytopathogens using oleoresin from *Copaifera reticulata* Ducke (copaiba)

Christian Neri Lameira^I, Benedito Gomes dos Santos Filho^{II}, Osmar Alves Lameira^{III}, Rosiene Santa Rosa Alcoforado^I, Heliana Ferreira Alves^{IV}, Ana Paula Ribeiro Medeiros^{II}

^I Escola Superior da Amazônia. Belém. Pará, Brasil.

^{II} Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém. Pará, Brasil.

^{III} Embrapa Amazônia Oriental. Belém. Pará, Brasil.

^{IV} Faculdade Metropolitana da Amazônia. Belém. Pará, Brasil.

RESUMO

Introdução: As espécies do gênero *Copaifera* são encontradas nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Amazônica do Brasil. Possuem várias indicações terapêuticas, principalmente contra microrganismos. Na tentativa de minimizar a toxicidade de agentes químicos sintéticos é necessário encontrar formas de diminuir ou inibir a ação desses patógenos através de controle alternativo.

Objetivos: Avaliar o efeito do oleoresina da espécie *Copaifera reticulata* Ducke no crescimento micelial *in vitro* de patógeno dos

Gêneros *Curvularia*, *Cylindrocladium*, *Pestalotia* *Phytophthora*, *Sclerotium* e *Thielaviopsis*.

Métodos: O oleoresina de *C. reticulata* foi coletado no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, situado no município de Mojú, Pará. Foram utilizadas espécies fúngicas cultivadas em meio de cultura BDA (batata, dextrose e Agar) sintético e de oleoresina puro de *C. reticulata* em três concentrações de 0 %, 0,25 % e 0,5 %. A avaliação do crescimento micelial *in vitro* foi realizada utilizando uma régua milimetrada determinando-se o diâmetro médio (mm) das colônias.

Resultados: Eles mostraram que a inibição de crescimento era de 61 e 65 % mais elevada nas proporções de 0,25 e 0,5 %, respectivamente, *Curvularia sp*, *Pestalotia sp*, *Phytophthora palmivora* e *Sclerotium coffeicola*.

Conclusão: Os resultados mostram que é possível utilizar a oleoresina de copaíba para o controle do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos.

Palavras-chave: *Copaifera reticulata* Ducke; *Curvularia sp*; *Pestalotia sp*; *Phytophthora palmivora*; *Sclerotium coffeicola*.

RESUMEN

Introducción: Las especies del género *Copaifera* crecen en las regiones sudeste, centro oeste y amazónica de Brasil y tienen varias indicaciones terapéuticas, especialmente contra los microorganismos. En un intento de minimizar la toxicidad de los productos químicos sintéticos es necesario encontrar las maneras de reducir o inhibir la acción de los patógenos mediante el control alternativo.

Objetivos: Evaluar el efecto de la oleoresina de la especie *Copaifera reticulada* Ducke sobre el crecimiento *in vitro* de los micelios de los hongos patógenos de los géneros *Curvularia*, *Cylindrocladium*, *Pestalotia phytophthora*, *Sclerotium* y *Thielaviopsis*.

Métodos: La oleoresina *C. reticulata* se recolectó en el campo experimental de la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria de la Amazonia Oriental (Embrapa) ubicado en el municipio de Moju (Pará). Se utilizaron las especies de hongos cultivados en medio de cultivo agar de papa y dextrosa (APD) sintético y de oleoresina pura de *C. reticulata* en tres concentraciones de 0 %, 0,25 % y 0,5 %. Se determinó el crecimiento *in vitro* de los micelios y se midió el diámetro promedio (mm) de las colonias con ayuda de una regla milimetrada.

Resultados: Se demostró que la inhibición del crecimiento de *Curvularia sp*, *Pestalotia sp*, *Phytophthora palmivora* y *Coffeicola sclerotium* fue 61 y 65 % en concentraciones de 0,25 y 0,5 % de oleoresina pura de *C. reticulata*, respectivamente.

Conclusiones: Los resultados de este estudio revelan que se puede utilizar la oleoresina de copaiba para controlar el crecimiento *in vitro* de los micelios de fitopatógenos.

Palabras claves: *Copaifera reticulata* Ducke; *Curvularia sp*;

Pestalotia sp; Phytophthora palmivora; Sclerotium coffeicola.

ABSTRACT

Introduction: The species from the genus *Copaifera* growing in the southeast, central west and Amazon regions of Brazil have several medicinal uses, particularly against microorganisms. To minimize the toxicity of synthetic chemicals it is necessary to find ways to reduce or inhibit the action of pathogens through alternative control.

Objective: Evaluate the effect of oleoresin from the species *Copaifera reticulata* Ducke on *in vitro* growth of the mycelia of pathogenic fungi of the genera *Curvularia*, *Cylindrocladium*, *Pestalotia* *Phytophthora*, *Sclerotium* and *Thielaviopsis*.

Methods: Oleoresin from *C. reticulata* was collected from the fields at the Western Amazonia experimental agricultural research enterprise (Embrapa) in the municipality of Moju (Pará). The fungal species used had been grown in synthetic potato and dextrose agar (PDA) culture media and pure *C. reticulata* oleoresin at three concentrations: 0 %, 0.25 % and 0.5 %. Determination was made of *in vitro* growth of the mycelia and measurements were taken of the average diameter (in mm) of the colonies with the aid of a millimeter ruler.

Results: It was found that growth inhibition of *Curvularia sp*, *Pestalotia sp*, *Phytophthora palmivora* and *Sclerotium coffeicola* was 61 % and 65 % at concentrations of 0.25 % and 0.5 % of pure *C. reticulata* oleoresin, respectively.

Conclusions: Results revealed that copaiba oleoresin may be used to control *in vitro* growth of the mycelia of phytopathogens.

Key words: *Copaifera reticulata* Ducke, *Curvularia sp*, *Pestalotiopsis sp*, *Phytophthora palmivora*, *Sclerotium coffeicola*.

INTRODUÇÃO

Entre as plantas medicinais mais estudadas do mundo encontram-se as pertencentes ao gênero *Copaifera* pertencente à família *Leguminosae-Caesalpinoidae*, as copaibeiras, típicas das regiões Sudeste, Centro-Oeste e Amazônica do Brasil, que possuem também importância madeireira e ornamental.¹

Originários do metabolismo das plantas, os óleos essenciais possuem uma complexa composição química e são considerados fontes de substâncias biologicamente ativas, principalmente contra microrganismos.² Esses são promissores agentes antifúngicos com potencial para as agroindústrias.³

A oleoresina de copaíba é um produto natural e sua atividade antimicrobiana tem sido relatada por vários pesquisadores.⁴ Além

das atividades anti-inflamatórias, cicatrizantes e antimicrobianas, dentre outras, a oleoresina de *Copaifera reticulada* Duck, Fabaceae (copaíba) também pode ser considerada com potencial farmacológico.⁵

O desequilíbrio no ambiente de cultivo de plantas favorece o surgimento de pragas e doenças, e na agricultura o controle das doenças tem se intensificado, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos sintéticos.⁶ Dentre as alterações causadas por fatores desfavoráveis do ambiente, estão excesso e deficiência de umidade, alta e baixas temperaturas, desequilíbrios nutricionais desencadeados por solos de baixa fertilidade, sendo chamadas de doenças abióticas. Já as doenças bióticas podem ser causadas por fungos, bactérias, vírus, fitoplasmas e nematóides, etc.⁷

Fungos do gênero *Sclerotium* causam a murcha de esclerócio em *Capsicum annuum* L.⁸ (pimentão). Já os do gênero *Cylindrocladium* são responsáveis pela podridão peduncular nos *Cocos nucifera* L.⁹ (coco). Fungos do gênero *Phytophthora* são responsáveis pela podridão das raízes e frutos do *Carica papaya* L. (mamoieiro), especialmente nas regiões onde ocorrem altas precipitações pluviométricas e solos mal drenados¹⁰ e os do gênero *Pestalotia* estão associados à podridão dos frutos do mamoieiro pós-colheita.¹¹ Fitopatógenos do gênero *Curvularia* ocasionam mancha foliar em *Bactris gasipaes* Kunth¹² (pupunheira), enquanto os do gênero *Thielaviopsis* ocasionam a doença conhecida como resinose do *Thielaviopsis paradoxa*¹³ (coqueiro).

A utilização de produtos químicos, em doses excessivas ou de forma inadequada, no controle de doenças, pragas e plantas daninhas, tem promovido grandes danos ambientais, contaminação de animais, intoxicação de agricultores, entre outros. Buscando alternativas de controle menos agressivas, extratos de plantas têm sido utilizados com sucesso.¹⁴

Muitas substâncias foram identificadas na composição química da oleoresina de *C. reticulata*, detectando-se a presença do sesquiterpeno - β -cariofileno.¹⁵ Testes *in vitro* com oleoresina de *Copaifera* sp inibiram o crescimento micelial de fitopatógenos do gênero *Rhizoctonia*.¹⁴

O objetivo deste trabalho é avaliar a oleoresina de *C. reticulata* Ducke na inibição do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos dos gêneros *Curvularia*, *Cylindrocladium*, *Pestalotia*, *Phytophthora*, *Sclerotium* e *Thielaviopsis*.

MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará, utilizando espécies fúngicas fitopatógenas cultivadas em meio de cultura BDA (batata,

dextrose e Agar) sintético e oleoresina de *C. reticulata*.

Material vegetal

A oleoresina de *C. reticulata* foi coletada, seguindo técnicas descritas,¹⁵ no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, situado no município de Mojú, Pará, no Km 30 da rodovia PA-150, entre as coordenadas geográficas de 2°08'14" a 2°12'26" de latitude sul e 48°47'34" a 48°14" de longitude a oeste de Greenwich e altitude de 16 m. A identificação botânica foi realizada no Laboratório de Botânica da Embrapa Amazônia Oriental, pela Dra. Silvane Tavares Rodrigues, e as exsiccatas, encontram-se no Herbário IAN da mesma instituição sob o número de coletor 185178.

Ensaio do crescimento micelial

Os isolados dos patógenos utilizados nos experimentos (*Curvularia*, *Cylindrocladium*, *Pestalotia*, *Phytophthora*, *Sclerotium* e *Thielaviopsis*) foram obtidos no laboratório de fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, provenientes de culturas recentes desprovidas de contaminação. Os fungos foram cultivados a partir de repiques de discos de 3 mm para placas de Petri contendo meio BDA previamente fundido, autoclavado a 120 °C, por 20 minutos e uma atm de pressão e seguido de resfriamento até a temperatura de 25 °C. Após o tempo de cultivo, um disco micelial do fitopatógeno contendo 3 mm foi depositado sobre o meio BDA sintético previamente fundido, após serem autoclavados a 120 °C por 20 minutos e uma atm de pressão e seguidos de resfriamento a 47 °C, aproximadamente, e adicionado ao meio BDA a oleoresina de *C. reticulata* nas diversas diluições.

A amostra utilizada na verificação da inibição fitopatogênica foi da oleoresina puro de *C. reticulata* em três concentrações de 0,25 e 0,5 % para os fitopatógenos *Curvularia* sp, *Cylindrocladium* sp, *Pestalotia* sp, *P. palmivora*, *S. coffeicola* e *Thielaviopsis* sp, e Testemunha, nesta utilizada apenas 100 mL do meio BDA sintético contendo disco micelial de 3 mm do fitopatógeno.

Determinação do crescimento micelial

A medição do crescimento micelial *in vitro* foi realizada utilizando uma régua milimetrada determinando-se o diâmetro médio (mm) das colônias (média de duas medidas opostas). As avaliações foram realizadas com três a cinco dias de cultivo *in vitro*, de acordo com o crescimento micelial de cada fitopatógeno e comparado ao crescimento da Testemunha.

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial contendo quatorze tratamentos (seis espécies

fúngicas + testemunha x duas concentrações da oleoresina) e cinco repetições. A análise estatística foi feita por meio da análise de variação, comparando as medidas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade utilizando o programa estatístico SISVAR.

RESULTADOS

Em todos os tratamentos, o efeito da inibição do crescimento do patógeno pela oleoresina de *C. reticulata* foi dependente da dose utilizada, porém com diferenças no diâmetro máximo das colônias, em função das concentrações empregadas ([tabela 1](#)).

Tabela 1. Crescimento (cm) micelial *in vitro* de espécies fúngicas em meio BDA sintético tratado com oleoresina de *C. reticulata* nas concentrações de 0,25 e 0,5 %

Fitopatógeno	Concentração	
	0,25 %	0,5 %
Testemunha	9,00 dA	9,00 eA
<i>Pestalotia</i> sp	2,48 aB	1,48 aA
<i>P. palmivora</i>	2,64 aA	2,08 abA
<i>Curvularia</i> sp	3,38 aA	3,12 cA
<i>S. coffeicola</i>	3,44 aB	2,86 bcA
<i>Cylindrocladium</i> sp	6,12 bA	6,00 dA
<i>Thielaviopsis</i> sp	7,72 cB	6,62 dA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente ao nível de 5 % pelo teste de Tukey.

Todas as concentrações utilizadas no controle do crescimento micelial *in vitro* dos fitopatógenos *S. coffeicola* (Fig), *Curvularia* sp, *Pestalotia* sp e *P. palmivora* mostraram redução do crescimento das colônias dos patógenos em relação à testemunha. A concentração de 0,5 % apresentou maior efeito no crescimento micelial dos fungos, verificando-se que a inibição do crescimento é diretamente proporcional ao aumento da concentração da oleoresina junto ao meio BDA sintético. A maior inibição do crescimento ocorreu no fungo *Pestalotia* sp, com crescimento médio de 2,48 e 1,48 cm para as concentrações de 0,25 e 0,5 %, respectivamente. O fungo *Curvularia* sp em relação ao *S. coffeicola* apresentou maior inibição no crescimento para a concentração de 0,25 %, entretanto o inverso ocorreu para a concentração de 0,5 %.

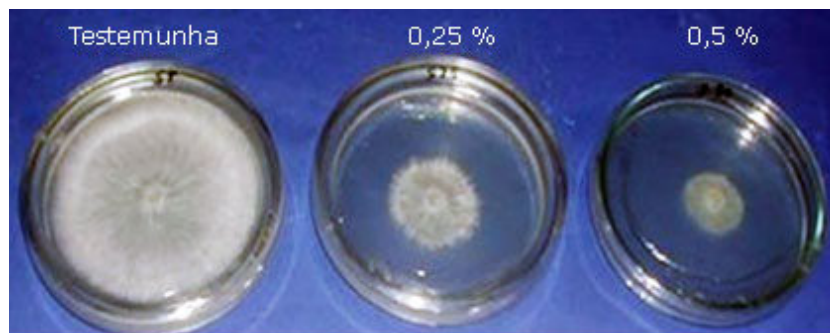


Fig. Crescimento micelial *in vitro* de *S. coffeicola* em meio de cultura BDA sintético tratado com oleoresina de *C. reticulata* nas concentrações de 0,25 e 0,5 % e Testemunha.

Na [tabela 2](#), observa-se que para os fungos *Cylindrocladium* sp e *Thielaviopsis* sp, nenhuma das concentrações utilizadas apresentaram resultados na inibição do crescimento micelial superiores a 35 %. A maior inibição do crescimento micelial foi para os fungos *Pestalotia* sp e *P. palmivora*, superiores a 70 %. Sendo que para o fungo *Pestalotia* sp a concentração de 0,5 % foi superior a 0,25 %. Não ocorrendo diferença significativa entre as concentrações para os demais fungos.

Tabela 2. Inibição do crescimento (%) micelial *in vitro* de espécies fúngicas em meio BDA sintético tratados com oleoresina de *C. reticulata* nas concentrações de 0,25 e 0,5 %

Fitopatógeno	Concentração	
	0,25 %	0,5 %
Testemunha	0 dA	0 eA
<i>Pestalotia</i> sp	72,44 aB	83,55 aA
<i>P. palmivora</i>	70,66 aA	76,88 abA
<i>Curvularia</i> sp	62,44 aA	65,33 cA
<i>S. coffeicola</i>	61,77 aA	68,22 bcA
<i>Cylindrocladium</i> sp	32,00 bA	33,33 dA
<i>Thielaviopsis</i> sp	14,22 cA	26,44 dA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente ao nível de 5 % pelo teste de Tukey.

DISCUSSÃO

Diversos estudos têm sido realizados na busca de controle alternativo de doenças em plantas. A utilização da oleoresina de *Copaifera* sp demonstrou toxicidade contra *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*, evidenciando que as espécies do gênero *Copaifera*, de uma maneira geral, podem ser utilizadas no controle de espécies fúngicas *in vitro*.¹⁶ Já a utilização do extrato de *Stylosantes* sp. na concentração em 25 %, a maior do experimento, controla o desenvolvimento micelial de *Sclerotinia*

sclerotiorum em meio BDA,¹⁷ demonstrando que o aumento da concentração tende a inibir o crescimento do fitopatógeno, resultado semelhante ao obtido no trabalho e exposto na [tabela 1](#).

O uso da oleoresina de *C. reticulata*¹⁶ e de *A. sativum* L.¹⁸ demonstrou que plantas consideradas medicinais têm sido eficientes na redução do crescimento micelial e germinação *in vitro* de escleródios de *M. phaseolina*. Análises realizadas com *Baccharis trimera* utilizando *A. sativum* demonstraram a mesma eficiência no ensaio da inibição do crescimento micelial do fitopatógeno *P. palmivora*.¹⁹

Fungos dos gêneros *Curvularia* apresentaram menor desenvolvimento de colônia, com valores variáveis de 30 %, quando cultivados em meios contendo extrato de alho nas concentrações de 1 000 ppm,²⁰ diferentemente ao resultado obtido no presente trabalho onde a inibição mínima do fungo foi superior a 62 %. E os resultados dos estudos utilizando o óleo essencial de *Cedrus deodora* no controle de *Curvularia lunata* mostrou-se mais efetivo do que os fungicidas sintéticos, não apresentando efeito adverso à germinação das sementes e crescimento das plântulas.²¹ Ensaio com o óleo essencial de *O. gratissimum* demonstraram que as concentrações de EBA em meio BDA acima de 15 % de plantas colhidas no inverno promoveram inibição total do crescimento micelial de fungos do gênero *Sclerotium*,²² resultado semelhante ao obtido nesse trabalho, onde a concentração de 0,25 % da oleoresina em meio BDA foi suficiente para inibir em mais de 60 % o crescimento do fungo do mesmo gênero.

As concentrações utilizadas de *C. reticulata* na inibição do crescimento micelial *in vitro* dos fitopatógenos são eficientes. O fitopatógeno *Pestalotia* sp apresenta sensibilidade aos efeitos fungicidas da oleoresina de *C. reticulata*. A inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos é diretamente proporcional à concentração da oleoresina de *C. reticulata*. Os resultados mostram que é possível utilizar a oleoresina de copaíba para o controle do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos.

Conflicto de intereses

Los autores plantean que no tienen conflicto de intereses.

REFERÊNCIA

1. Reis J, Costa LC, Roxa T, Weis V. Avaliação da germinação de copaíba (*Copaifera longsdorffii*) em diferentes tipos de substrato. (2010) [citado 23 novembro 2015]; Disponível em: http://www.catolicato.edu.br/portal/portal/downloads/docs_gestaoambiental/projetos2010-1/3.23/11/2012
2. Oliveira MMM, Brugnara DF, Cardoso MG, Guimarães LGL,

- Piccoli RH. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. Rev. Bras. Pl. Med (Botucatu). 2011;13(1):8-16.
3. Al-Reza SM, Rahman A, Ahmed Y, Kang SC. Inhibition of plant pathogens *in vitro* and *in vivo* with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. Pesticide Biochemistry and Physiology (San Diego). 2010;96(2):86-92.
4. Rodrigues FG, Kozerski ND, Gazim ZC, Gonçalves DD, Martins LA. Atividade bactericida da *copaífera* sp. frente a *staphylococcus* spp. isolados de mastite bovina. Enciclopédia biosfera, centro científico conhecer (Goiânia). 2013;9(17):293-301.
5. Ziech RE, Farias LD, Balzan C, Ziech MF. Atividade antimicrobiana do oleorresina de copaíba (*Copaífera reticulata*) frente a *Staphylococcus* coagulase positiva isolados de casos de otite em cães. Pesq. Vet. Bras. 2013;33(7):909-13.
6. Venturoso LR, Bacchi LMA, Gavassoni WL. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. Summa Phytopathologica 2011;37(1):18-23.
7. Resende JAM, Massola JRNS, Bedendo IP, Krugner TL. Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In: Amorim L, Resende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia (Piracicaba). Agronômica Ceres. 2011;1(4):37-58.
8. Serra IMR de S, Silva GS da. Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfii* obtidos de pimentão no Estado do Maranhão. Fitopatol. Bras 2005;30(1):61-6.
9. Poltronieri LS, Trindade DR, Alfenas AC, Albuquerque FC, Carvalho JEU. Podridão peduncular de coco causada por *Cylindrocladium floridanum* no Estado do Pará. Fitopatologia Brasileira. 2003;28(1):106.
10. Trindade DR, Poltronieri LS. *Phytophthora palmivora* causando podridão de frutos de mamoeiro no Pará. Fitopatologia Brasileira 2002;27(4):422.
11. Peres AP, Machado J da C, Chitarra AB, Lima LC de O. Comunicação. Perfil enzimático de fungos associados à podridão peduncular do mamão. Ciência Agrotécnica (Lavras) 2000;24(1):295-9.
12. dos Santos AF, Bezerra JL, Tessmann DJ, Poltronieri LS. Ocorrência de *Curvularia senegalensis* em pupunheira e palmeira real no Brasil. Fitopatologia Brasileira 2003;28(2):204.
13. Santos CC, Oliveira FA de, Santos MS dos, Talamini V, Ferreira JMS, Dos Santos FJ. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*. Scientia Plena 2012;8(4):1-5.
14. Santos PL dos, Prando MB, Morando R, Pereira GVN, Kronka AZ. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas.

Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer (Goiânia)
2013;9(17):2562-76.

15. Oliveira ECP, Lameira AO, Zoghihi MGB. Identificação da época de coleta do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.) no município de Moju, PA. Revista Brasileira Plantas Mediciniais (Botucatu) 2006;8(3):14-23.

16. Oliveira ECP, Lameira AO, Barros PLC, de Poltronieri LS. Avaliação do óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) na inibição do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos. Revista Ciências Agrárias 2006;46(46):53-61.

17. F.P. Monteiro, L.P. Pacheco, E.R. Lorenzetti, C. Armesto, P.E. de Souza, M.S. de Abreu. Extratos de plantas de cobertura no desenvolvimento de *sclerotinia sclerotiorum*. Arq. Inst. Biol. (São Paulo) 2012;79(4):567-77.

18. Chalfoun SM, Carvalho VD. Efeito do extrato de óleo industrial de alho sobre o desenvolvimento de fungos. Fitopatologia Brasileira 1987;12(3):234-5.

19. Schwan-Estrada KRF, Stangarlin JR, Cruz MES. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. Floresta 1997;30(1/2):129-37.

20. Barros ST, Oliveira NT, Maia LC. Efeito do extrato de alho (*Allium sativum*) sobre o crescimento micelial de *Curvularia* spp e *Alternaria* spp. Summa Phytopathologica 1995;21(2):168-70.

21. Dikshit A, Dubey NK, Tripathi NN, Dixit SN. Cedrus oil - a promising storage fungitoxicant. Journal of Stored Products 1983;19(4):159-62.

22. Benini PC, Schwan-Estrada KRF, klais EC, Cruz MES, Itako AT, Mesquini RM, Stangarlin JR, Tolentino Júnior JB. Efeito *in vitro* do óleo essencial e extrato aquoso de *ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. Arq. Inst. Biol. (São Paulo). 2010;77(4):677-83.

Recibido: 25 de noviembre de 2015.

Aprobado: 26 de marzo de 2018.

Christian Neri Lameira. Escola Superior da Amazônia, Belém-PA.
Correo electrónico: christianlameira@yahoo.com.br