

EFEITO *IN VITRO* DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO AQUOSO DE *OCIMUM GRATISSIMUM* COLHIDO NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO SOBRE FITOPATÓGENOS

P.C. Benini¹, K.R.F. Schwan-Estrada^{1*}, E.C. Klais¹, M.E.S. Cruz¹,
A.T. Itako¹, R.M. Mesquini¹, J.R. Stangarlin^{2*}, J.B. Tolentino Júnior¹

¹Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Agronomia, Av. Colombo, 5.790, CEP 87020-900, Maringá, PR, Brasil. E-mail: schwan@wnet.com.br

RESUMO

O trabalho foi desenvolvido para verificar o efeito do óleo essencial e do extrato bruto de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), coletado nas quatro estações do ano, no crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* sp. e *Alternaria alternata*. Para avaliar o efeito do óleo essencial no crescimento micelial dos fungos, alíquotas de 20 µL, 40 µL e 60 µL de óleo esterilizado foram distribuídas na superfície de meio BDA (batata-dextrose-ágar) antes da repicagem dos fungos. O extrato bruto aquoso (EBA) foi filtrado e incorporado em BDA nas concentrações de 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% e 50%. Os resultados indicaram que houve inibição total do crescimento micelial dos fungos nas diferentes alíquotas de óleo essencial. O EBA das plantas colhidas no outono proporcionou os melhores resultados, sendo que nesta estação do ano o EBA na concentração de 5% foi suficiente para promover 100% de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos *A. alternata* e *S. rolfsii*.

PALAVRAS-CHAVE: Alfavaca cravo, controle alternativo, planta medicinal.

ABSTRACT

IN VITRO EFFECT ON PHYTOPATHOGENS OF ESSENTIAL OIL AND AQUEOUS CRUDE EXTRACT OF *OCIMUM GRATISSIMUM* HARVESTED IN THE FOUR SEASONS. The present work aimed to evaluate the effects of the essential oil and crude extract of wild basil (*Ocimum gratissimum*), harvested in different seasons, on the *in vitro* mycelia growth of *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* sp. and *Alternaria alternata*. To evaluate the effect of the essential oil, sterilized oil aliquots of 20 µL, 40 µL and 60 µL were distributed on the surface of potato-dextrose-agar (PDA). The aqueous crude extracts (ACE) were filtrated and incorporated in PDA at 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% and 50%. The results showed total inhibition of mycelial growth in the different aliquots of essential oil. The ACE collected from plants in autumn had better results; in this season the ACE at 5% was enough to provide 100% of mycelia growth inhibition of *A. alternata* and *S. rolfsii*.

KEY WORDS: Wild basil, alternative control, medicinal plants.

INTRODUÇÃO

Ocimum gratissimum (alfavaca-cravo) é uma planta considerada medicinal, pois em sua composição química, encontram-se substâncias ativas, biologicamente sintetizadas. Estas substâncias podem ser utilizadas direta ou indiretamente como medicamentos, pois provocam, no organismo humano, reações como a cura ou abrandamento de doenças (CASTRO; FERREIRA, 2000; CASTRO *et al.*, 2004). Esta planta possui óleo essencial rico em eugenol (40-66%) e timol (31%) (VIEIRA; SIMON, 2000) com ação antisséptica local contra fungos (ação fungicida) e bactérias (ação bactericida) e apresenta seu maior teor entre 11 e 13

horas, período que é recomendável para colheita (MATOS, 1997; MARTINS *et al.*, 2000).

As etapas de colheita e pós-colheita de plantas medicinais são importantes para a obtenção de maior quantidade e qualidade dos óleos essenciais. Entre os principais fatores que se deve levar em consideração na colheita estão a época e horário da colheita, a temperatura e o tempo de secagem (CARVALHO FILHO *et al.*, 2006; MARTINS *et al.*, 2000; CASTRO *et al.*, 2004). O conhecimento dos fatores que influenciam a variação dos compostos químicos nas plantas medicinais auxilia na obtenção de matéria-prima de qualidade e, conseqüentemente, de produto final de boa qualidade (CASTRO *et al.*, 2004).

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil.

*Bolsista Produtividade CNPq.

SILVA et al. (1995) citaram que algumas substâncias, como o eugenol, cineol, metil chavicol e linalol, sintetizadas pelas plantas medicinais, são utilizadas em seres humanos por possuírem propriedades antimicrobianas. Estes mesmos compostos secundários podem exercer na planta diversas funções importantes, como nas interações planta-planta (alelopatia), planta-animal (anti-herbivoria, atração de agentes polinizadores) e planta-micro-organismo patogênico. Nesta última função, tais compostos podem participar das respostas de defesa da planta em um sistema natural, quer seja na planta que os produz ou em outras interações planta-patógeno, atuando como substâncias fungitóxicas à semelhança dos fungicidas sintéticos. Também podem atuar como antissépticos em seres humanos.

A atividade antimicrobiana de plantas medicinais utilizando-as como extratos e óleos essenciais tem sido frequentemente citada na literatura, tanto em experimentos *in vitro* quanto *in vivo*. Como exemplos, podem ser mencionados os trabalhos de STANGARLIN et al. (1999) com extrato bruto aquoso (EBA) de arruda e manjeriço na inibição de *Sclerotium rolfsii*; FIORI et al. (2000) com *Eucalyptus citriodora*, *Cymbopogon citratus*, *Ageratum conyzoides* e *Achillea millefolium* na inibição do crescimento micelial, esporulação e germinação de *Didymella bryoniae*; ROZWALKA (2003) com o EBA de *Rosmarinus officinalis* observaram redução de 67% e 47,49% no crescimento micelial dos fungos *Glomerella cingulata* e de *Colletotrichum gloeosporioides*, respectivamente e, BALBI-PEÑA et al. (2006), com extrato de cúrcuma (*Curcuma longa*) na inibição de *Alternaria solani*, observaram que extratos aquosos não autoclavados, nas concentrações de 10 e 15%, inibiram o crescimento micelial em 38,2% e 23,2%, respectivamente.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do óleo essencial e extrato bruto aquoso de *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo), colhido nas quatro estações do ano, no crescimento micelial *in vitro* dos fungos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* sp. e *Alternaria alternata*.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas de *O. gratissimum* utilizadas nos experimentos foram obtidas no Horto de Plantas Medicinais do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e colhidas entre os horários de 12h e 14h nos meses de janeiro, abril, julho e outubro, representando cada estação do ano. Os experimentos foram realizados nos laboratórios de Plantas Medicinais e de Fitopatologia da UEM.

Obtenção dos isolados

Os isolados de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* sp. e *Alternaria alternata* foram cedidos pela micoteca do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo da ESALQ/USP. Os fungos foram repicados e mantidos em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) à temperatura de $24 \pm 2^\circ \text{C}$ e fotoperíodo de 12h.

Obtenção do óleo essencial e extrato bruto aquoso

O óleo essencial foi obtido pelo método de arraste a vapor (COSTA, 1986), tendo sido utilizados de 500 a 1.000 g de folhas frescas e picadas, colhidas durante o ano, nas quatro estações.

Para obtenção do extrato bruto aquoso, folhas frescas nas quantidades de 10, 50, 100, 150, 200, 250 e 500 g foram coletadas nas quatro estações do ano e trituradas em 1 L de água destilada por 1 min, em liquidificador. Os homogenatos resultantes foram filtrados em gaze e em papel de filtro Whatman nº 1, obtendo-se o extrato bruto aquoso, o qual foi utilizado no mesmo dia do preparo.

Efeito *in vitro* do óleo essencial e do extrato bruto aquoso de *O. gratissimum* no crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos

Após esterilização por filtração em membrana Millipore, alíquotas de 20, 40 e 60 μL do óleo essencial foram depositadas no centro de placas de Petri contendo meio BDA e distribuídas na superfície do meio com alça de Drigalsky. A seguir, um disco de micélio (8 mm de diâmetro) dos isolados de *R. solani*, *S. rolfsii*, *Phytophthora* sp. e *A. alternata*, retirados de colônias com 10 dias de idade em BDA, foi repicado para o centro de cada placa que foram vedadas com filme plástico e mantidas a $28^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$, no escuro. Como testemunha foi utilizada água destilada esterilizada.

Folhas frescas de alfavaca-cravo, colhidas nas quatro estações do ano, foram trituradas em água destilada por 1 min em liquidificador e os homogenatos resultantes foram submetidos à filtragem em gaze e em papel de filtro Whatman nº 1, obtendo-se EBA. A seguir, o EBA foi incorporado ao meio BDA de modo a obterem-se concentrações de 1, 5, 10, 15, 20, 25 e 50%, sendo então autoclavados ($121^\circ \text{C}/20\text{min}$) e distribuídos em placas de Petri. Após a solidificação do meio, disco de micélio (8 mm de diâmetro) com 10 dias de idade de cada um dos isolados foram repicados para o centro de cada placa e estas, em seguida, foram vedadas com filme plástico e incubadas a $28^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$ em escuro. O tratamento testemunha consistiu de placas com apenas BDA.

O crescimento micelial foi avaliado através da mensuração diária do diâmetro das colônias no sentido diametralmente oposto do crescimento. O período da avaliação

foi o compreendido entre 24 horas após a instalação do experimento até o momento em que as colônias fúngicas do tratamento testemunha, de cada um dos fitopatógenos, apresentaram crescimento em 2/3 da superfície do meio de cultura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições, em esquema fatorial $8 \times 4 + 1$ e $4 \times 4 + 1$ para o EBA e OE, respectivamente, cujos fatores foram concentrações, isolados fúngicos e testemunha. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ($p = 0,05$) e, quando significativos, foram analisados por regressão, correlacionando porcentagem de inibição de crescimento micelial (ICM) e concentração de EBA e OE para cada fungo. Para a análise dos dados de crescimento micelial com EBA, foram ajustados os modelos quadráticos ($y = y_0 + ax + bx^2$) e inversa de primeira ordem ($y = y_0 + a/x$). As análises de regressão foram realizadas por meio do programa SAS 9.1 (SAS Institute, 2002).

Para o cálculo dos percentuais de inibição do crescimento micelial (ICM) em meio de cultivo, tanto para o óleo essencial (OE) como para o extrato bruto aquoso (EBA), utilizou-se a fórmula (BASTOS, 1997):

$$\text{ICM} = \frac{\text{Cresc. Testemunha} - \text{Cresc. Tratamento}}{\text{Cresc. Testemunha}} \times 100$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observando os resultados do óleo essencial sobre o crescimento micelial (Fig. 1), verificou-se que todas as alíquotas do OE de *O. gratissimum* inibiram totalmente o crescimento micelial dos fungos *R. solani*, *S. rolfsii*, *Phytophthora* sp. e *A. alternata*. STANGARLIN *et al.* (1999) observaram 100% de inibição na germinação de conídios

de *Colletotrichum graminicola* quando na presença de OE de *O. gratissimum*. FARIA *et al.* (2006) verificaram que o óleo essencial de *O. gratissimum* inibiu o crescimento de *Botryosphaeria rhodina*, duas espécies de *Alternaria* sp. e *Penicillium chrysogenum* e associaram esta atividade antifúngica ao eugenol. FENG; ZHENG (2007), trabalhando com óleo essencial de tomilho e cássia, em diferentes concentrações (100 a 500 ppm), observaram 100% de inibição do crescimento micelial de *A. alternata* quando na presença de 300 ppm de óleo de cássia e/ou tomilho.

Com relação aos extratos aquosos, pode-se verificar que os extratos oriundos das plantas colhidas no outono, na concentração a partir de 5%, inibiram totalmente o crescimento micelial *R. solani* (Fig. 2). O EBA de plantas colhidas no verão proporcionou inibição total do crescimento, nas concentrações acima de 10%, enquanto o EBA oriundo de plantas coletadas no inverno e na primavera proporcionou 100% de inibição do crescimento micelial a partir da concentração de 15%. Para o desenvolvimento de *Phytophthora* sp. (Fig. 3), observa-se que concentrações de EBA acima de 5% proporcionaram inibição total do crescimento micelial, quando provieram de plantas colhidas no outono. O EBA de plantas colhidas no inverno, na primavera e verão provocaram inibição do crescimento micelial deste fitopatógeno, nas concentrações a partir de 10%. Vários outros trabalhos relatam o efeito desta espécie de planta ou mesmo deste gênero em outros fitopatógenos, tais como os resultados obtidos por AWAH (1989) onde verificou que o EBA de *O. gratissimum* inibiu o crescimento micelial de *Ustilago maydis*, *Ustilaginoidea virens*, *Curvularia lunata* e *Rhizopus* sp. nas concentrações de 10 a 60%, além de reduzir 75% o desenvolvimento das lesões causadas por *Phytophthora palmivora* em fruto de cacau inoculado com o fungo e tratado com extrato foliar. Este autor verificou também potencial erradicante sobre os esporângios desse fungo (AWAH, 1994).

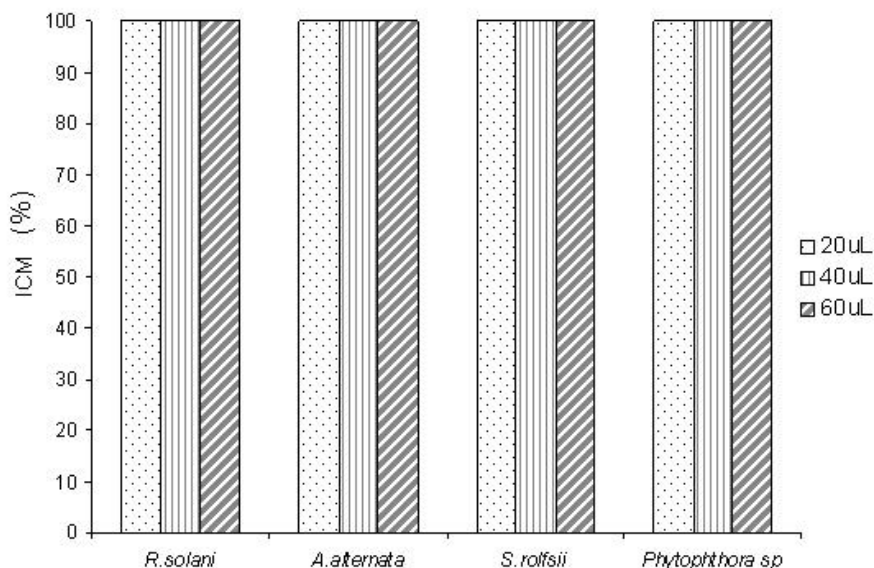


Fig. 1 - Inibição *in vitro* do crescimento micelial (ICM %) de fungos fitopatogênicos em presença de óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

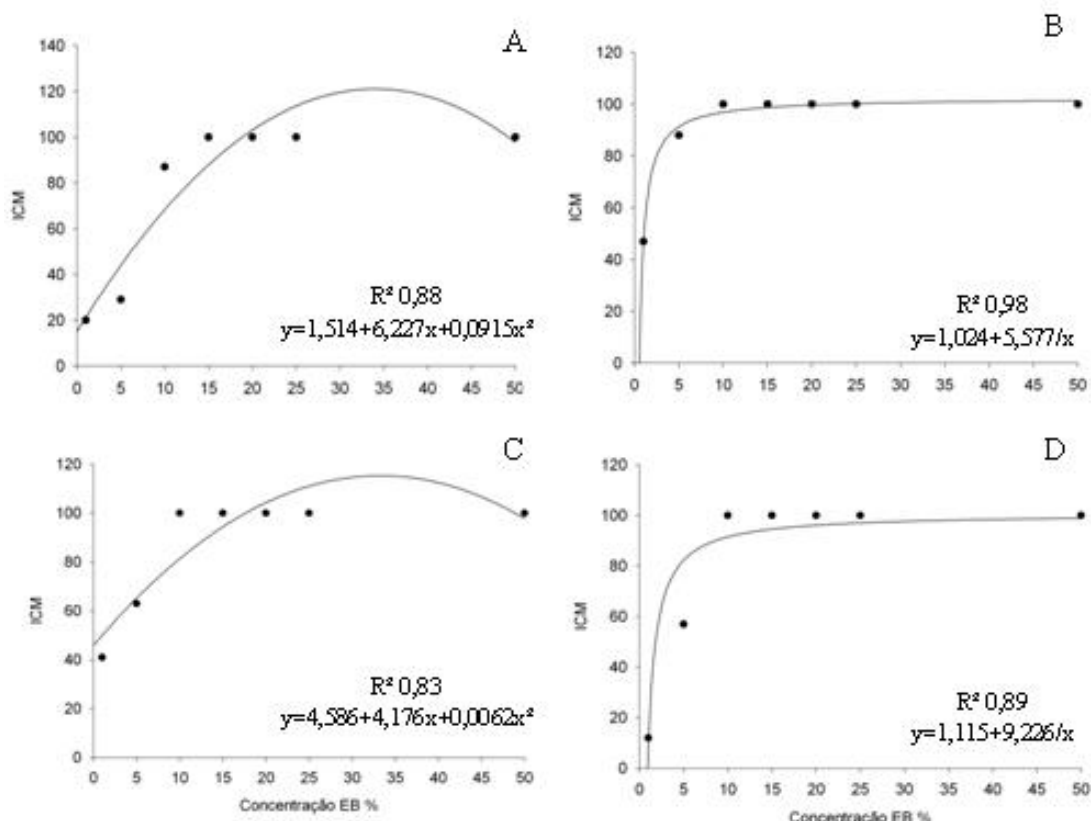


Fig. 2 - Inibição *in vitro* do crescimento micelial (ICM %) de *Rhizoctonia solani*, em presença de extrato bruto da planta *Ocimum gratissimum*, coletada nas quatro estações do ano. A: Inverno; B: outono; C: primavera; D: verão.

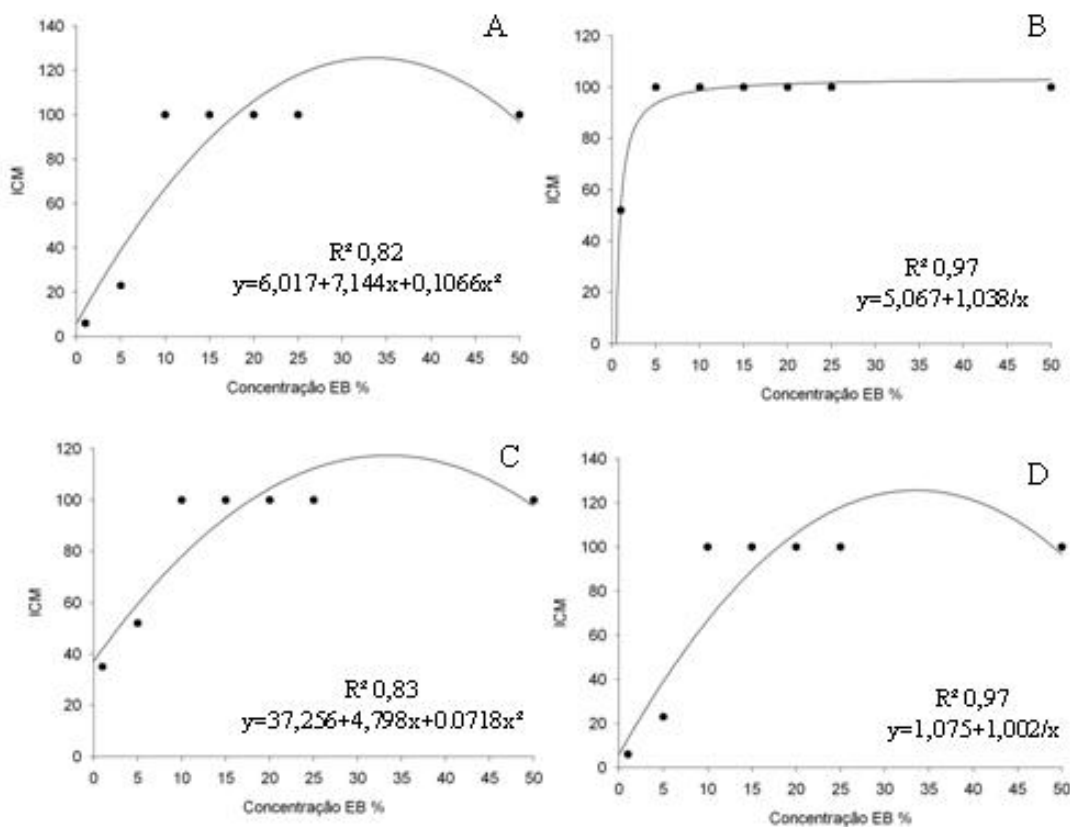


Fig. 3 - Inibição *in vitro* do crescimento micelial (ICM %) de *Phytophthora* sp., em presença de extrato bruto da planta *Ocimum gratissimum*, coletada nas quatro estações do ano. A: Inverno; B: outono; C: primavera; D: verão.

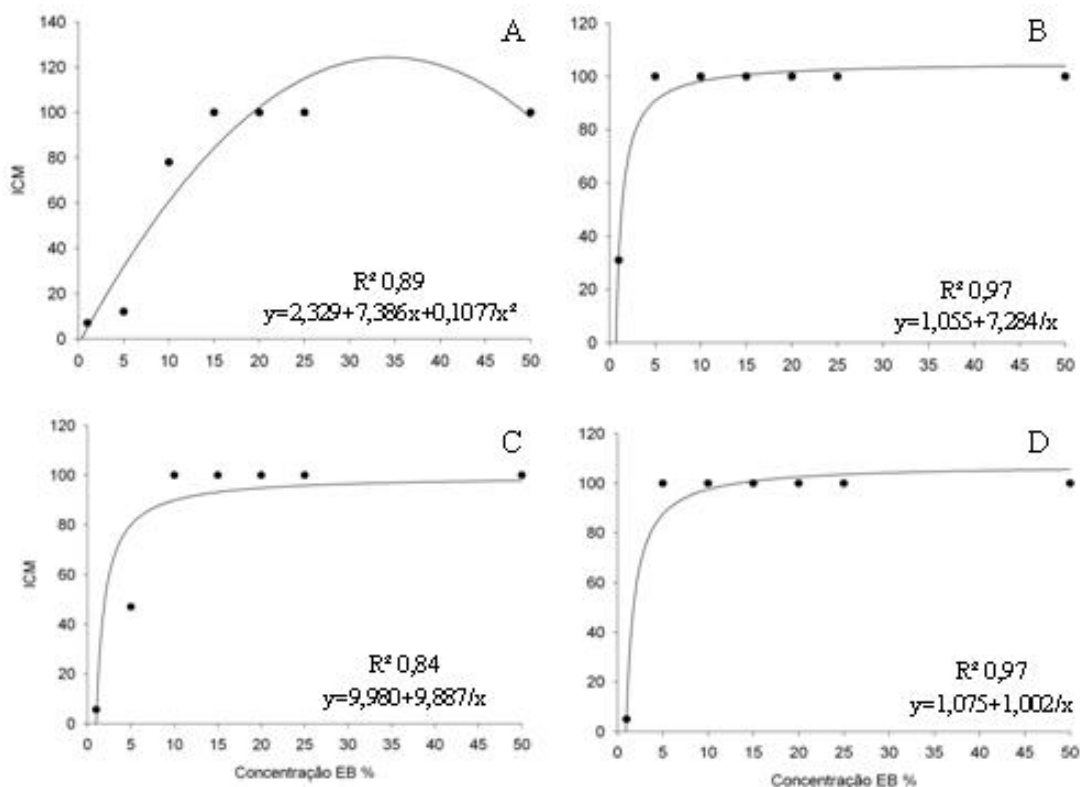


Fig. 4 - Inibição *in vitro* do crescimento micelial (ICM %) de *Sclerotium rolsii*, em presença de extrato bruto da planta *Ocimum gratissimum*, coletada nas quatro estações do ano. A: Inverno; B: outono; C: primavera; D: verão.

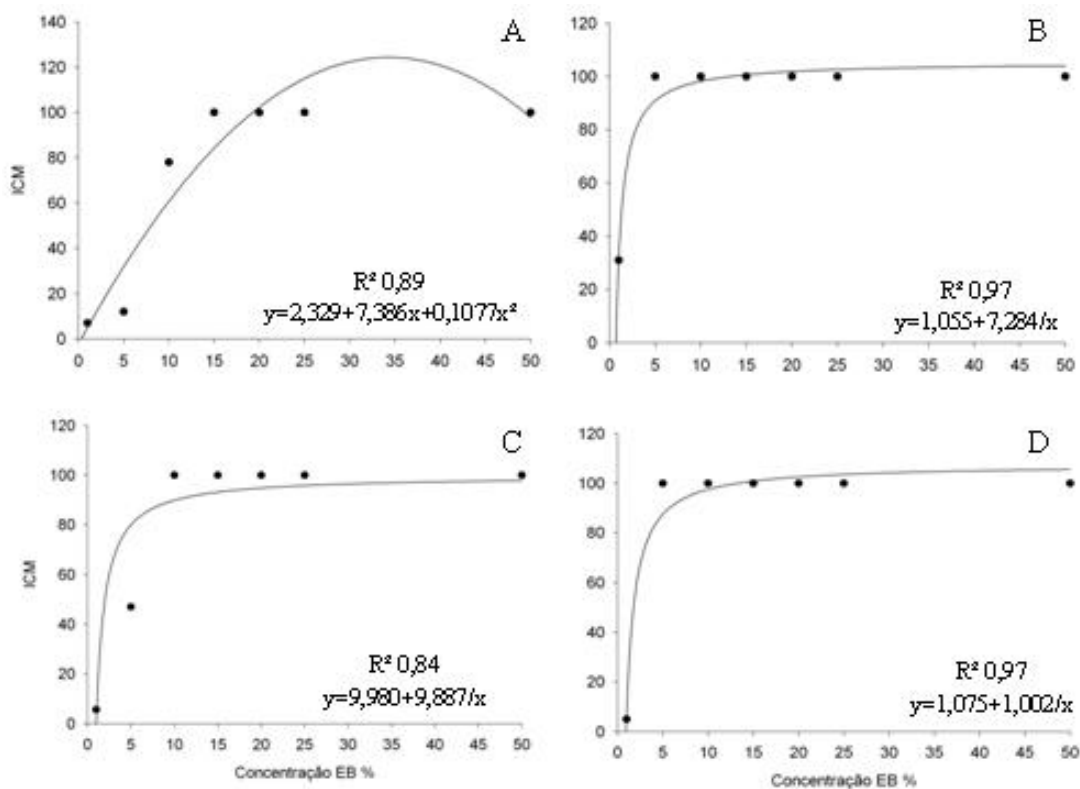


Fig. 5 - Inibição *in vitro* do crescimento micelial (ICM %) de *Alternaria alternata*, em presença de extrato bruto da planta *Ocimum gratissimum*, coletada nas quatro estações do ano. A: Inverno; B: outono; C: primavera; D: verão.

Para *S. rolfsii* (Fig. 4), pode-se observar pela análise de regressão que EBA de plantas colhidas no inverno promoveram inibição total do crescimento micelial, a partir de 15%, enquanto EBA de plantas colhidas nas demais estações do ano proporcionaram inibição total do crescimento micelial deste fitopatógeno, em concentrações iguais ou acima de 10%. Para *A. alternata* (Fig. 5), observou-se 100% de inibição deste fitopatógeno a partir da concentração de 5% do EBA das plantas colhidas nas estações do outono e verão. Extratos brutos aquosos de plantas colhidas no inverno e na primavera promoveram inibição a partir de 15% e 10%, respectivamente.

Ensaio realizado por ROSSET *et al.* (2005) para verificar a atividade antifúngica do extrato etanólico de *O. gratissimum*, utilizando a técnica de difusão em meio sólido, evidenciaram a inibição do crescimento de *Penicillium chrysogenum*, *Rhizoctonia* sp., *Aspergillus niger* e de duas espécies de *Alternaria* sp. isoladas de tomate e de cenoura. Estes autores também concluíram que o eugenol foi um dos prováveis compostos responsáveis pela atividade antifúngica do extrato, ratificando os registros da literatura que comprovam a atividade deste constituinte contra várias espécies de fungos (DUBEY *et al.*, 2000; NAKAMURA *et al.*, 2004).

Verificou-se que a inibição do crescimento micelial, dos fungos fitopatogênicos estudados, foi maior quando o EBA foi obtido de plantas coletadas no outono, seguida das coletadas no verão. CARNEIRO; FERNANDES (1996) citam que em ambientes adversos (temperaturas mais elevadas, baixa precipitação pluviométrica entre outros), as plantas utilizam sua energia e seus recursos na produção de metabólitos secundários (compostos químicos) para se defenderem de insetos herbívoros, micro-organismos patogênicos e outros inimigos naturais.

LAVABRE (1997) e MARTINS *et al.* (2000) citaram que o papel dos óleos essenciais é o de ajudar a planta a se adaptar ao meio ambiente, por isso sua produção aumenta em situações de estresse. Considerando que óleos essenciais são substâncias de defesa da plantas sintetizados em condições de cultivo adversas, como temperaturas elevadas ou períodos longos de estiagem, aliado ao fato da espécie em questão ser oriunda da Ásia, portanto, espécie exótica ou introduzida, nos leva a crer que, provavelmente, as plantas colhidas no outono e no verão possuam maior teor de óleo essencial. Isto pode ser explicado pelo fato dessas encontrarem nestas estações condições de estresse hídrico e temperaturas elevadas, respectivamente, ocasionando maiores teores de óleo essencial nestas épocas do ano. Já no inverno a taxa de crescimento das plantas reduz muito e com isto, provavelmente, a produção dos metabólitos secundários.

CASTRO; CHEMALE (1995) recomendam que a colheita da espécie *Ocimum basilicum*, planta do mesmo gênero, deva ser realizada no outono, quando o interesse for produção de folhas e no verão, quando o interesse for produção de flores, o que corrobora com o maior efeito antifúngico obtido neste trabalho, quando as plantas foram coletadas justamente nestas estações do ano. Assim, os extratos brutos aquosos, mesmo na menor concentração testada (5%), ocasionaram inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que tanto o extrato bruto aquoso como o óleo essencial de *O. gratissimum* apresenta-se promissor para o controle de fitopatógenos e que plantas colhidas no outono e verão apresentam maior teor de substâncias com características fungicidas.

REFERÊNCIAS

- AWAH, R.T. Fungitoxic effects of extracts from some West African plants. *Annals of Applied Biology*, v.115, n.3, p.451-453, 1989.
- AWAH, R.T. *In vivo* use of extracts from *Ocimum gratissimum* and *Cymbopogon citratus* against *Phytophthora palmivora* causing blackpod disease of cocoa. *Annals of Applied Biology*, v.124, n.1, p.173-178, 1994.
- BALBI-PENÑA, M.I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; LOPES M.C.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina - I. Avaliação *in vitro*. *Fitopatologia Brasileira*, v.31, n.3, p.310-314, 2006.
- BASTOS, C.N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, v.22, n.3, p.441-443, 1997.
- CARNEIRO, M.A.A.; FERNANDES, G.W. Sexo, drogas e herbivoria. As relações conflituosas entre plantas e insetos. *Ciência Hoje*, v.20, n.118, p. 32-35, 1996.
- CARVALHO FILHO, J.L.S.; ALVES, P.B.; EHLERT, P.A.D.; MELO, A.C.; CACALCANTI, S.C.H.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SILVA-MANN, R.; BLANK, A.F. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum*) essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n.1, p.24-30, 2006.
- CASTRO, H.G.; FERREIRA, F.A. *Contribuição ao estudo das plantas medicinais: carqueja (Baccharis genistelloides)*. Viçosa, MG: UFV, 2000. 10p.

- CASTRO, L.O.; CHEMALE, V.M. *Plantas medicinais, condimentares e aromáticas*. Guaíba: Agropecuária, 1995. 196p.
- CASTRO, H.G.; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.J.H.; MOSQUIM, P.R. *Contribuição ao estudo das plantas medicinais-metabólitos secundários*. 2.ed. Visconde de Rio Branco, 2004. 113p.
- COSTA, A. F. *Farmacognosia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1986. v.1. 1031p.
- DUBEY, K.N.; TIWARI, T.N.; MANDIN, D.; ANDRIAMBOAVONJY, H.; CHAUMONT, J.P. Antifungal properties of *Ocimum gratissimum* essential oil (ethyl cinnamate chemotype). *Fitoterapia*, v.71, n.5, p.567-569, 2000.
- FARIA, T.J.; FERREIRA, R.S.; YASSUMOTO, L.; SOUZA, J.R.P.; ISHIKAWA, N.K.; BARBOSA, A.M. Antifungal of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.49, n.6, p.867-871, 2006.
- FENG, W.; ZHENG, X. Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo. *Food Control*, v.18, n.9, p.1126-1130, 2007.
- FIORI, A.C.G.; SCHWAN-ESTRADA.; STANGARLIN, J.R.; VIDA, J.B.; SCAPIM, C.A.; CRUZ, M.E.S.; PASCHOLATI, S.F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. *Journal of Phytopathology*, v.148, n.7/8, p.483, 2000.
- LAVABRE, M. *Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais*. Rio de Janeiro: Record, 1997. 172p.
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. *Plantas Medicinais*. Viçosa: Editora UFV, 2000. 220 p.
- MATOS, F.J. A. *As plantas da farmácia viva*. Fortaleza: BNB, 1997. 57p.
- NAKAMURA, C.V.; ISHIDA, K.; FACCIN, L.C.; DIAS FILHO, B.P.; CORTEZ, D.A.G.; ROZENTAL, S.; SOUZA, W.; UEDA-NAKAMURA, T. In vitro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four *Candida* species. *Research in Microbiology*, v.155, n.7, p.579-586, 2004.
- ROSSET, M.; ZAMARION, V.M.; FACCIONE, M.; FARRIA T.J.; PINTO J.P.; BARBOSA, A.M.; SOUZA, J.R.P. Estudo químico da fração diclorometânica do extrato de *Ocimum gratissimum* L. *Semina: Ciências Agrárias*, v.26, n.4, p.515-520, 2005.
- ROZWALKA, L.C. *Controle alternativo da antracnose em frutos de goiabeira, em laboratório*. 2003. 45p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2003.
- SAS INSTITUTE *ser's guide: statistics*, version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.
- SILVA, I.; MIRANDA NETO, M.H.; FRANCO, S.L.; CARDOSO, M.L.C.; MOLINARI, S.L.; SANT'ANA, D.M.G.; CONEGERO, C.I.; IWANKO, N.S. *Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais*. Cascavel: Assoeste, 1995. 203p.
- STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. *Biotechnology, Ciência & Desenvolvimento*, n.11, p.16-21, 1999.
- VIEIRA, R.F.; SIMON, F.E. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. *Economic Botany*, v.54, n.2, p.207-216, 2000.

Recebido em 30/6/09

Aceito em 10/8/10