

Controle de pinta preta e de mancha bacteriana em tomateiro por extrato formulado de *Rosmarinus officinalis*

Lindomar Assi¹, Clair Aparecida Viecelli², José Renato Stangarlin^{1*}, Odair José Kuhn¹, Cristiane Claudia Meinerz¹, Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada^{3*}

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Caixa Postal 91, CEP 85960-000, Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil; ²Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, Avenida da União 500, CEP 85902-532, Toledo, PR, Brasil; ³Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Agronomia, Av. Colombo 5790, CEP 87020-900, Maringá, PR, Brasil. *Bolsistas de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

Autor para correspondência: José Renato Stangarlin (jrstangarlin@pq.cnpq.br ou jose.stangarlin@unioeste.br)

Data de chegada: 18/04/2017. Aceito para publicação em: 28/09/2017.

10.1590/0100-5405/178687

RESUMO

Assi, L.; Viecelli, C.A.; Stangarlin, J.R.; Kuhn, O.J.; Meinerz, C.C.; Schwan-Estrada, K.R.F. Controle de pinta preta e de mancha bacteriana em tomateiro por extrato formulado de *Rosmarinus officinalis*. *Summa Phytopathologica*, v.44, n.4, p.355-360, 2018.

Com o intuito de desenvolver novas medidas de proteção de plantas contra doenças, o objetivo deste trabalho foi verificar o controle da pinta preta (*Alternaria solani*) e da mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*) no tomateiro, e a atividade antimicrobiana contra seus agentes causais utilizando pó solúvel de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). Para o teste de estabilidade, o pó solúvel foi armazenado a 40 °C por 0, 60, 120 e 180 dias e testado em cinco concentrações (0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹). Definidos o tempo de prateleira e a melhor concentração, avaliaram-se os intervalos de aplicação de sete, 14 e 21 dias. Como tratamentos controle foram utilizados os fungicidas

Azoxystrobina (200 mg do ingrediente ativo – i.a. mL⁻¹) para pinta preta e Oxicloreto de cobre (400 mg i.a. mL⁻¹) para mancha bacteriana. Não houve atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato contra *A. solani* e *X. vesicatoria*. A concentração calculada de extrato de alecrim que resultou em menor severidade das doenças foi de 130 mg L⁻¹, com tempo de prateleira do pó solúvel de 24 meses. O extrato proporcionou o mesmo nível de controle da pinta preta e da mancha bacteriana que os fungicidas utilizados, com eficiência de até 75%, em intervalo de aplicação de sete dias. Estes resultados demonstram a eficiência do pó solúvel de alecrim para controle da pinta preta e da mancha bacteriana do tomateiro.

Palavras-chave: agricultura orgânica, alecrim, *Alternaria solani*, controle alternativo, indução de resistência, *Solanum lycopersicum*, *Xanthomonas vesicatoria*.

ABSTRACT

Assi, L.; Viecelli, C.A.; Stangarlin, J.R.; Kuhn, O.J.; Meinerz, C.C.; Schwan-Estrada, K.R.F. Control of early blight and bacterial spot in tomato by *Rosmarinus officinalis* extract. *Summa Phytopathologica*, v.44, n.4, p.355-360, 2018.

Aiming to develop new measures of plant protection against diseases, the objective of this study was to verify the control of early blight (*Alternaria solani*) and bacterial spot (*Xanthomonas vesicatoria*) in tomato plants, as well as the antimicrobial activity against their causal agents, using soluble powder of rosemary (*Rosmarinus officinalis*). For the stability test, the soluble powder was kept at 40 °C during 0, 60, 120 and 180 days and assayed at five concentrations (0, 50, 100, 150 and 200 mg L⁻¹). When the shelf life and the best concentration were defined, the application intervals of seven, 14 and 21 days were evaluated. As control treatments, the following fungicides were used:

Azoxystrobin (200 mg active ingredient – a.i mL⁻¹) for early blight and Copper Oxychloride (400 mg a.i. mL⁻¹) for bacterial spot. There was no *in vitro* antimicrobial activity of the extract against *A. solani* and *X. vesicatoria*. The calculated concentration of rosemary extract that resulted in the least severity of diseases was 130 mg L⁻¹, with 24 months of shelf life of the soluble powder. The extract provided the same control level for early blight and bacterial spot as that of the used fungicides, showing efficiency of up to 75% at a seven-day application interval. These results show the efficiency of rosemary soluble powder in controlling early blight and bacterial spot in tomato plants.

Keywords: organic growth, rosemary, *Alternaria solani*, alternative control, resistance induction, *Solanum lycopersicum*, *Xanthomonas vesicatoria*.

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é suscetível a grande número de doenças, como a mancha bacteriana e a pinta preta. A mancha bacteriana causada por *Xanthomonas vesicatoria* Vauterin é uma doença de ocorrência muito frequente e destrutiva em condições de elevada umidade, precipitação e temperaturas, sendo o tomateiro suscetível em qualquer idade e todos os órgãos da parte aérea são afetados (11). A pinta preta, causada por *Alternaria solani* Sorauer também é importante

doença nas condições brasileiras de cultivo, devido ao seu alto potencial destrutivo (10). A ocorrência dessas doenças no tomateiro causa grandes danos, principalmente no caso de cultivo orgânico, em comparação com outras culturas mais resistentes, o que tem levado muitos agricultores a optarem pelo cultivo convencional, fortemente dependente do uso de defensivos químicos (6).

Assim, em face aos problemas que têm sido verificados pelo uso

contínuo de pesticidas para o controle de doenças, como a seleção de isolados dos patógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas, poluição ambiental e intoxicações, têm-se buscado novas medidas de proteção das plantas. Uma das alternativas que tem demonstrado resultados promissores é o uso de extratos vegetais com propriedades antimicrobiana direta e/ou de indução de resistência, a qual consiste na ativação de mecanismos de defesa latentes existentes na própria planta hospedeira (24).

Algumas pesquisas têm sido feitas para utilizar extratos e óleos essenciais da planta medicinal *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) para o controle de doenças em plantas. Röder et al. (21) conduziu ensaios em condições de campo (cultivo orgânico) com dois cultivares de morangueiro, 'Camarosa' e 'Dover', para controle de *Colletotrichum fragariae* Brooks em canteiros e de *Rhizopus* sp. Ehrenb. em pós-colheita, utilizando extratos aquosos de alecrim e arruda (*Ruta graveolens* L.) em concentração de 10%, preparados no momento do uso e pulverizados quinzenalmente. Foi observado que para a cultivar 'Camarosa' o alecrim reduziu 51%, em média, a intensidade das doenças quando comparado ao tratamento padrão do produtor.

Kuhn et al. (9) verificaram que extratos aquosos obtidos de folhas frescas de alecrim, em concentração de 10% (peso/volume) e aplicados a cada sete dias, foram tão eficientes quanto os tratamentos com oxiclureto de cobre (4 g L^{-1}) e acibenzolar-S-metil (50 mg L^{-1}) para o controle de *X. vesicatoria* em tomateiro "Débora Plus" em cultivo protegido. Neste trabalho, no entanto, esses autores não testaram doses e intervalos de aplicação do extrato de alecrim, o qual era preparado no momento do uso.

Para patógenos de sistema radicular, os extratos ou derivados de alecrim também têm mostrado eficiência de controle. Extrato aquoso de folhas de alecrim em concentrações de 1%, 5% e 10%, apresentou tanto efeito nematostático, com até 97% de paralisação do movimento de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood, quanto nematocida, com até 83% de mortalidade de nematoides (19). Em ensaio com soja tratada com óleo essencial de alecrim a 1%, 2% e 3%, houve controle de *M. javanica* (Treub) Chitwood, mas não de *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev e Schuurmans Stekhoven (16).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a atividade antimicrobiana *in vitro* sobre *X. vesicatoria* e *A. solani* e o controle da mancha bacteriana e da pinta preta em tomateiro utilizando formulações estáveis, obtidas a partir de extrato aquoso de alecrim, determinando-se ainda seu tempo de prateleira, intervalo de aplicação e dose.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e manutenção dos patógenos

O isolado de *A. solani* AS01 foi proveniente de Marechal Cândido Rondon/PR e fornecido pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, o qual foi mantido em meio V8 a 25 °C e fotoperíodo de 12 h (2). Para *X. vesicatoria* foi utilizado o isolado 2010-24 proveniente de Caçador/SC e fornecido pela Embrapa - CNPH, o qual foi cultivado em meio ágar-nutriente a 25 °C e mantido no escuro por 72 h. A manutenção da bactéria ocorreu em solução salina (NaCl 0,85%) com armazenamento a -20 °C (13).

Obtenção e avaliação do extrato formulado

Folhas frescas de alecrim foram trituradas em liquidificador com água destilada durante 2 min e, após filtragem em gaze, o extrato aquoso

foi seco em atomizador a 106 °C, obtendo-se assim um formulado pó solúvel. Esse pó solúvel foi armazenado em embalagem de papel alumínio impermeável (7 cm x 6,5 cm) contendo 1 g. Essas embalagens foram submetidas ao processo de envelhecimento acelerado em estufa de circulação forçada de ar a 40 °C por seis meses, ao que, não havendo alteração na atividade biológica do produto durante este tempo de armazenamento, atribui-se ao mesmo a validade de 24 meses (3).

Com zero, 60, 120 e 180 dias de armazenagem as embalagens foram retiradas e utilizadas para avaliar a atividade biológica em ensaios *in vitro* (atividade antimicrobiana) e *in vivo* (controle de pinta preta e de mancha bacteriana no tomateiro). Para tanto, os formulados foram dissolvidos em água destilada esterilizada para obter concentrações de 0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹, imediatamente antes do uso.

Atividade antimicrobiana

Para *A. solani* foi avaliada a germinação de conídios em lâmina de microscopia revestida com 800 mL de ágar-água 2%. Para tanto, alíquotas de 50 mL dos formulados, com concentrações corrigidas para se manter os valores indicados, e alíquotas de 50 mL de suspensão de esporos de *A. solani* (3×10^4 conídios mL⁻¹), obtidos de uma cultura com 14 dias de idade, foram distribuídas na superfície das lâminas. Essas lâminas foram incubadas em câmara úmida sob luz fluorescente durante 24 h a 20 °C e fotoperíodo de 12 h. Como testemunha foi utilizada água destilada esterilizada (1). Após 24 h foram adicionados 40 mL de lactofenol com azul de algodão em cada lâmina, a fim de paralisar a germinação dos esporos. Foram utilizadas três lâminas por tratamento. O esporo foi considerado germinado quando o comprimento do seu tubo germinativo era maior ou igual ao menor diâmetro do esporo.

Para *X. vesicatoria*, 5 mL dos formulados, com concentrações corrigidas para se manter os valores indicados anteriormente, foram esterilizados em filtro de seringa (membrana com 0,45 mm de diâmetro de poro) e adicionados assepticamente em tubo de ensaio com meio caldo nutriente. A concentração bacteriana foi ajustada para todos os tratamentos em 4×10^8 unidades formadoras de colônia (UFC) mL⁻¹. A multiplicação bacteriana foi avaliada após 24 h pela leitura de absorbância a 580 nm em espectrofotômetro.

Para estes ensaios foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial simples, considerando quatro tempos de armazenagem (0, 60, 120 e 180 dias) e cinco concentrações (0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹), com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, com posterior teste de médias ou análise de regressão, conforme a pertinência, utilizando o programa SISVAR 5.3 (5).

Controle de pinta preta e mancha bacteriana no tomateiro Avaliação da concentração do formulado

Sementes de tomateiro híbrido Débora-Plus (Sakata Seed Sudamerica Ltda.) foram semeadas em bandejas de isopor com substrato comercial e mantidas em casa de vegetação climatizada a 28 °C ± 3 °C. Após 30 dias as mudas foram transplantadas para vasos de 1,5 L (uma planta por vaso) contendo mistura de solo, areia e matéria orgânica (2:1:2) autoclavados (1 h a 121 °C e 1 atm, sendo repetida a operação 24 h após). Vinte dias após o transplante as plantas foram aspergidas até o ponto de escorrimento com os formulados nas concentrações indicadas. Três dias após o tratamento, as plantas foram inoculadas pela aspersão de suspensão contendo 3×10^4 conídios mL⁻¹ de *A. solani* ou 4×10^8 UFC mL⁻¹ de *X. vesicatoria*, e mantidas em câmara úmida por 24 h. Como tratamentos controle foram utilizados os fungicidas Azoxystrobina (200 mg do ingrediente ativo – i.a. mL⁻¹) para a pinta preta e oxiclureto

de cobre (400 mg i.a. mL⁻¹) (fungicida com ação bactericida) para a mancha bacteriana. A severidade das doenças foi avaliada 28 dias após a inoculação (DAI) utilizando escalas diagramáticas (2, 17).

O experimento teve delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial simples, considerando quatro tempos de armazenamento do formulado, cinco concentrações, com três repetições, sendo que estes dados foram submetidos à análise de variância e os dados ajustados em análise de regressão utilizando o programa SISVAR 5.3 (5).

Avaliação do intervalo de aplicação do formulado

Para determinar o melhor intervalo de aplicação do formulado de alecrim para controle de pinta preta e mancha bacteriana no tomateiro, foram empregados os mesmos procedimentos já descritos, utilizando apenas a concentração do formulado e o tempo de armazenamento que apresentaram melhor controle dessas doenças no ensaio anterior. Foram testados intervalos de aplicação de sete, 14 e 21 dias, mantendo-se as inoculações do patógeno sempre aos três dias após os tratamentos. Mesmo para os intervalos de sete e 14 dias ocorreram inoculações dos patógenos todas as semanas para simular a ocorrência de epidemias, sendo cinco inoculações dos patógenos em todas as plantas. Dessa forma, no total foram cinco, três e duas aplicações de formulado de alecrim para os intervalos de aplicação de sete, 14 e 21 dias. A avaliação de severidade foi pontual e ocorreu aos 35 dias após a primeira inoculação.

O delineamento experimental, os tratamentos controle e a análise estatística foram como descritos no ensaio para avaliar a concentração do formulado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade antimicrobiana

A análise de variância do efeito das concentrações do extrato de alecrim e do tempo de armazenagem do formulado pó solúvel sobre a germinação de conídios de *A. solani* não foi significativa. A média geral de conídios germinados para os diferentes tratamentos foi de 46,57%, enquanto que para a testemunha água foi de 49,59%, indicando não haver com esse extrato solúvel atividade antimicrobiana direta sobre esse patógeno (dados não mostrados).

Resultados opostos foram encontrados por outros autores, onde o extrato bruto aquoso de alecrim, não submetido a tratamento térmico, foi fungitóxico contra *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson, *Rhizoctonia solani* Kühn e *Sclerotium rolfsii* Sacc. (25), o que foi verificado também por Pitarokili et al. (20) contra *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Sclerotium cepivorum* Berk., *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan e *Fusarium* spp. Link, por Camatti-Sartori et al. (4) contra *Fusarium* sp. e *Botrytis* sp. Micheli ex Haller isolados de gérbera e rosa, e por Scapin et al. (23) contra *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs isolado de milho pipoca.

Para *Alternaria solani*, Itako et al. (7) verificaram que o extrato aquoso, obtido de folhas frescas de alecrim no momento do uso, inibiram em 79% a esporulação desse patógeno a partir da concentração de 10%, e em 60% a germinação de conídios para a concentração de 20% (ou 200.000 mg L⁻¹), concentrações estas consideradas pelo menos 1000 vezes maior em relação à maior concentração utilizada neste trabalho, no valor de 200 mg L⁻¹. Portanto, as concentrações relativamente baixas utilizadas neste trabalho, associadas à temperatura de aproximadamente 106 °C durante a obtenção do pó solúvel podem ter contribuído para a redução da atividade antimicrobiana desses extratos.

Quanto à atividade antibacteriana sobre *X. vesicatoria*, também não se verificou efeito significativo para o tempo de armazenamento do pó solúvel e para a concentração do extrato aquoso de alecrim (dados não mostrados). Verificou-se assim, que o extrato de alecrim nestes ensaios não mostrou atividade antimicrobiana contra *X. vesicatoria*. No entanto, para outros produtos derivados de alecrim, a literatura apresenta resultados diferentes. O óleo essencial de alecrim em concentrações de 4% e 8% inibiu *in vitro* a multiplicação de *Ralstonia solanacearum* Smith isolada de tomateiro e de pimentão, respectivamente (14, 15). Da mesma forma, o óleo de alecrim a partir da concentração de 1% inibiu *in vitro* a multiplicação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings isolada de feijão vagem (26). Deve-se ressaltar, entretanto, que o óleo essencial apresenta maior concentração de princípios ativos do que o extrato aquoso (12), além do que, neste trabalho, foram testadas concentrações pelo menos 400, 200 e 50 vezes menores em relação às concentrações de 8%, 4% e 1%, respectivamente, utilizadas naqueles trabalhos, quando se considera a concentração de 200 mg L⁻¹.

Controle de pinta preta e mancha bacteriana do tomateiro Avaliação do tempo de armazenamento do pó solúvel e da concentração

Houve controle da pinta preta causada por *A. solani* em tomateiro tratado com extrato solúvel de alecrim, com a mesma eficiência do fungicida utilizado como tratamento padrão (Figura 1). Ao utilizar o extrato obtido de pó solúvel sem armazenamento (dia 0) houve redução linear da severidade da doença em relação à concentração, enquanto que para os demais tempos de armazenamento o efeito foi quadrático, mas mantendo-se a mesma eficiência, o que indica, portanto, validade ou tempo de prateleira desse produto de 24 meses na forma de pó solúvel. As concentrações de 50 mg L⁻¹ para os tempos 60 e 180 dias e de 100 mg L⁻¹ para os tempos zero e 120 dias não diferiram do tratamento com fungicida. Para as equações quadráticas, a concentração calculada de extrato de alecrim que resultou em menor severidade da doença foi em média ao redor de 130 mg L⁻¹. Assim, para o ensaio de intervalo de aplicação, optou-se por utilizar esta concentração.

Para a mancha bacteriana, também houve controle desta doença pelo extrato aquoso de alecrim, com comportamento quadrático em relação às diferentes concentrações testadas (Figura 2). As concentrações de 100 e 150 mg L⁻¹ para os tempos 60 e 180 dias e de 150 mg L⁻¹ para os tempos zero e 120 dias de armazenamento do pó solúvel não diferiram do tratamento com fungicida. Dessa forma, como a eficiência do produto foi mantida, a validade ou tempo de prateleira do mesmo é de 24 meses na forma de pó solúvel. A concentração calculada de extrato de alecrim que resultou em menor severidade da doença também foi em média ao redor de 130 mg L⁻¹. Assim, para os demais ensaios, como intervalo de aplicação, optou-se por utilizar esta concentração também para o controle da mancha bacteriana.

Avaliação do intervalo de aplicação

Houve controle de *A. solani* em plantas de tomateiro tratadas com extrato de alecrim (Tabela 1), com eficiência média de 61,10% em relação à testemunha tratada somente com água. O melhor controle foi obtido quando o extrato foi aplicado em intervalo de sete dias (71,66% de controle). No entanto, o extrato de alecrim aplicado em intervalos de sete e 14 dias não diferiu do tratamento com fungicida.

Para a mancha bacteriana (Tabela 1), a eficiência de controle proporcionada pelo extrato de alecrim foi de 62,76% em relação à testemunha água. O melhor controle foi obtido quando o extrato foi

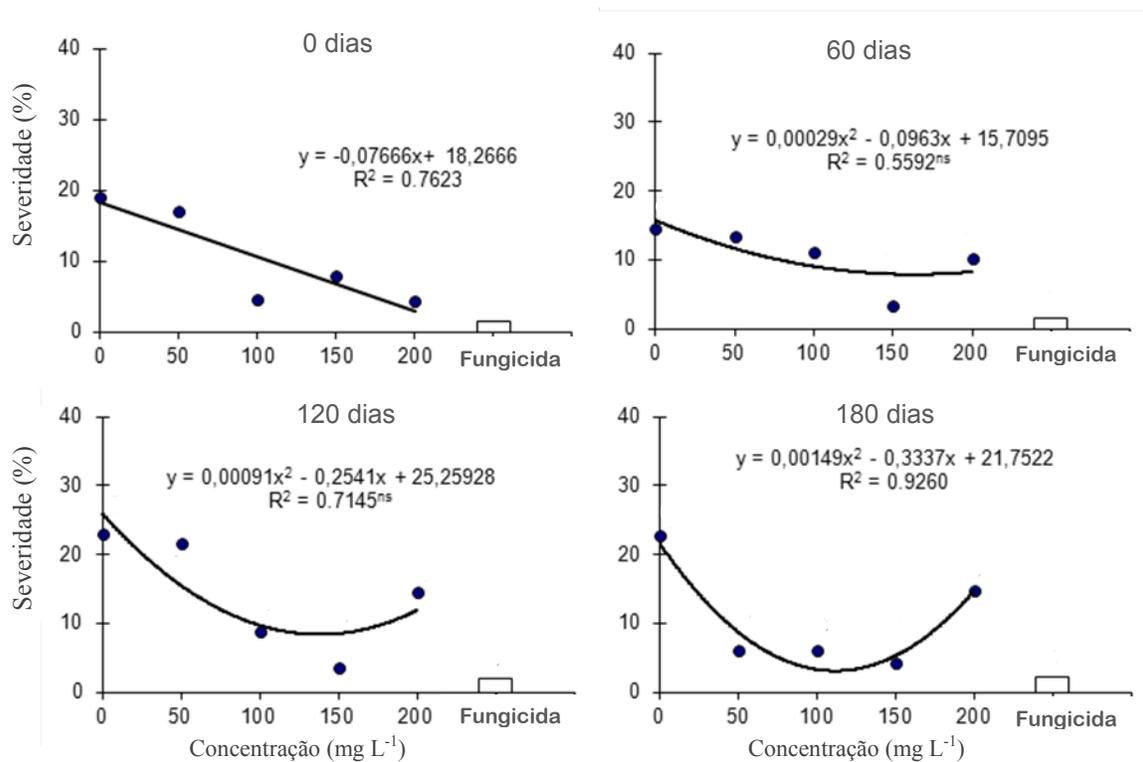


Figura 1. Severidade da pinta preta, causada por *A. solani*, em tomateiro tratado com diferentes concentrações (50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹) de extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), obtido de formulado pó solúvel armazenado por zero, 60, 120 ou 180 dias a 40 °C. Fungicida: Azoxystrobin (200 mg L⁻¹).

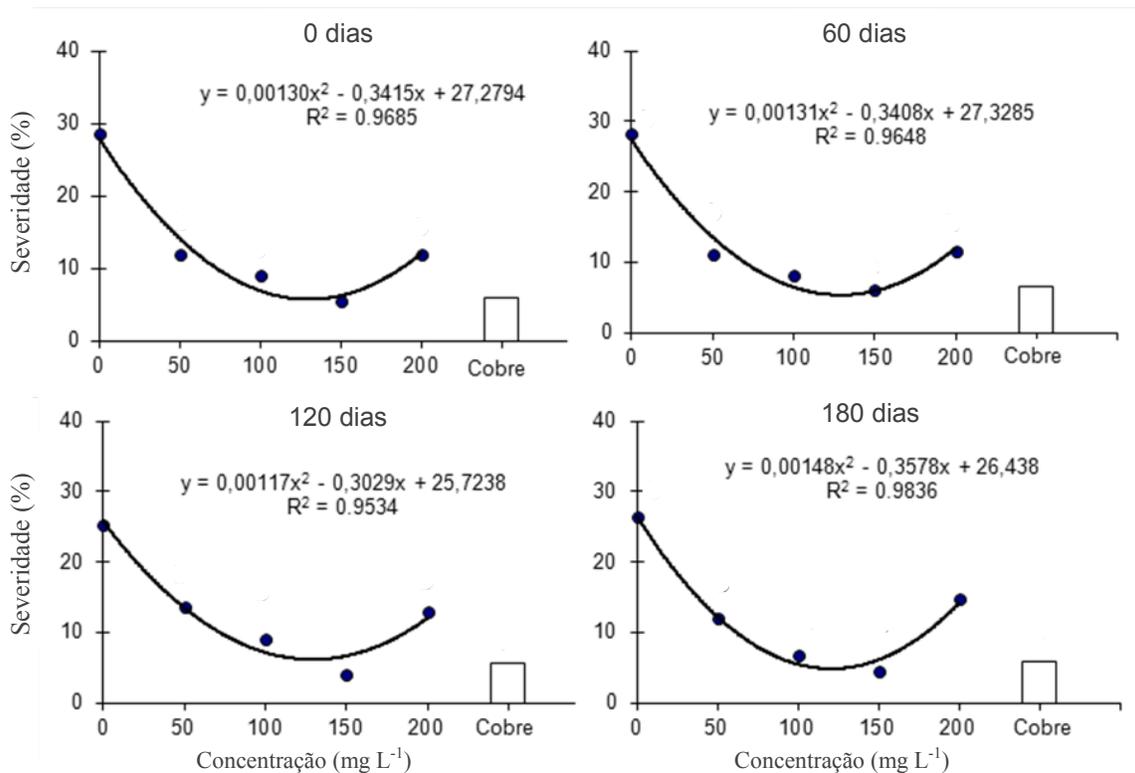


Figura 2. Severidade da mancha bacteriana, causada por *X. vesicatoria*, em tomateiro tratado com diferentes concentrações (50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹) de extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), obtido de formulado pó solúvel armazenado por zero, 60, 120 ou 180 dias a 40 °C. Cobre: fungicida oxiclóreto de cobre (400 mg L⁻¹).

Tabela 1. Severidade (%) da pinta preta, causada por *A. solani*, e da mancha bacteriana, causada por *X. vesicatoria*, em tomateiro e porcentagem de controle proporcionado pela aplicação do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) em intervalos de 7, 14 e 21 dias.

Pinta Preta:

Tratamentos	Intervalo (dias)			Controle (%)
	7	14	21	
Alecrim ¹	6,80 bC ³	9,80 bB	13,20 bA	61,10
Fungicida ²	5,40 bB	7,80 bA	9,80 cA	69,96
Água	24,00 aB	25,40 aAB	27,20 aA	-
Média geral		14,38		
C.V. (%)		9,92		

Mancha Bacteriana:

Tratamentos	Intervalo (dias)			Controle (%)
	7	14	21	
Alecrim ¹	5,60 bC ³	9,00 bB	12,8 bA	15,85
Oxicloreto de cobre ⁴	5,00 bB	6,8 bAB	9,60 cA	25,14
Água	23,2 aB	23,6 aB	26,8 aA	-
Média geral		13,60		
C.V. (%)		13,58		

¹Extrato aquoso (130 mg L⁻¹) obtido no momento do uso a partir do pó solúvel armazenado por 180 dias;

²Azoxystrobina (200 mg L⁻¹);

³O patógeno foi inoculado semanalmente em todas as plantas. A avaliação de severidade ocorreu 35 dias após a primeira inoculação. Médias seguidas de mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P ≤ 5%);

⁴Oxicloreto de cobre (400 mg L⁻¹).

aplicado em intervalo de sete dias (75,82% de controle). No entanto, o extrato de alecrim aplicado em intervalos de sete e 14 dias não diferiu do tratamento com oxicloreto de cobre.

O uso de alecrim para controle de doenças no tomateiro foi relatado por Itako et al. (8), que observaram redução da severidade da cladosporiose (*Cladosporium fulvum* Cooke) em tomateiro quando se utilizou o extrato aquoso em concentrações de 10% e 20%, obtido de folhas frescas no momento do uso. Menezes et al. (18) conseguiram controle de *A. solani* do tomateiro, em casa de vegetação, com extrato aquoso a 10%.

Em outros patossistemas, o extrato aquoso fresco de alecrim reduziu a incidência de antracnose (*Colletotrichum fragariae* Brooks) em condições de campo em frutos de morangueiro (21), e o óleo de alecrim reduziu em 69% a área abaixo da curva de progresso da ramulose (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* Costa) em algodoeiro (22). No entanto, o óleo essencial não foi eficiente para o controle do crestamento bacteriano comum em feijão vagem em ensaio em casa de vegetação com o óleo em concentração de 0,5% (27).

Dessa forma, conclui-se que o extrato aquoso de alecrim, em formulação pó solúvel, manteve-se estável por até dois anos de armazenamento, e que quando aplicado a 130 mg L⁻¹ em intervalo de sete dias, é capaz de controlar a pinta preta e a mancha bacteriana do tomateiro. Essa mesma formulação não apresentou atividade antimicrobiana direta sobre *A. solani* e *X. vesicatoria*, patógenos causadores dessas doenças.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa de produtividade em pesquisa de JRS e KRFS.

REFERÊNCIAS

- Balbi-Peña, M.I.B.; 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**, Brasília, v.31, n.2, p.311-315, 2006.
- Balbi-Peña, M.I.B.; 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 - II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, n.4, p.401-404, 2006.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 398, de 12 de novembro de 2004. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 nov. 2004. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao/#/visualizar/27503>>. Acesso em: 05 nov. 2015.
- Camatti-Sartori, V.; Magrini, F.E.; Crippa, L.B.; Marchetti, C.; Venturin, L.; Silva-Ribeiro, L.T. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v.2, n.6, p.117-122, 2011.
- Ferreira, D.F. **Sisvar versão 5.3**. Lavras: Departamento de Ciências Exatas da Universidade Federal de Lavras, 2003.
- Hamerschmidt, I.; Toledo, M.V.; Popia, A.F.; Assis, O. **Manual de olericultura orgânica**. Curitiba: EMATER/SEAB, 2012. 129p.
- Itako, A.T.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Tolentino Júnior, J.B.; Stangarlin, J.R.; Cruz, M.E.S. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v.33, p.241-244, 2008.

8. Itako, A.T.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Stangarlin, J.R.; Tolentino Júnior, J.B.; Cruz, M.E.S. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, p.75-83, 2009.
9. Kuhn, O.J.; Stangarlin, J.R.; Baldo, M.; Iurkiv, L.; Meinerz, C.C.; Franzener, G.; Trautmann, R.R. Resistência induzida contra *Xanthomonas vesicatoria* afeta o metabolismo produtivo do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.34, p.35, 2008. Suplemento.
10. Kurozawa, C.; Pavan, A. Doenças do tomateiro. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. v.2, p.690-719.
11. Lopes, C.A.; Quezado-Soares, A.M. Doenças causadas por bactérias em tomate. In: Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Costa, H. (Ed.). **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: Os editores, 2000. v.2, p.757-800.
12. Maia, J.G.S. Os óleos essenciais. In: Bandoni, A.L.; Czepak, M.P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil**. Vitória: EDUFES, 2008. p.48-69.
13. Mariano, R.L.R.; Assis, S.M.P. Preservação de bactérias fitopatogênicas. In: Mariano, R.L.R. (Ed.). **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000. p.37-47.
14. Martins, E.S.C.S.; Santos, M.S.; Barros, H.M.M.; Farias, M.A.A. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de citronela, alecrim e erva-cidreira no controle *in vitro* da bactéria *Ralstonia solanacearum* em tomateiro. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.3, n.3, p.29-34, 2009.
15. Martins, E.S.C.S.; Farias, M.A.A.; Santos, M.S.; Barros, H.M.M. Efeito dos óleos essenciais de citronela, alecrim e erva-cidreira no controle *in vitro* de *Ralstonia solanacearum* em pimentão. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.4, n.1, p.9-13, 2010.
16. Mattei, D.; Dias-Arieira, C.R.; Biela, F.; Roldi, M.; Silva, T.R.B.; Rampim, L.; Dadazio, T.S.; Tavares-Silva, C.A. Essential oil of *Rosmarinus officinalis* in the control of *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.2, p.469-476, 2014.
17. Mello, S.C.M.; Takatsu, A.; Lopes, C.A. Escala diagramática para avaliação da mancha-bacteriana do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.22, p.447-448, 1997.
18. Menezes, V.O.; Pedroso, D.C.; Dill, A.M.; Santos, R.F.; Muller, J.; Junges, E.; Muniz, M.; Blume, E. Uso de extratos vegetais *in vivo* no controle de *Alternaria solani* e na produtividade do tomateiro. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v.4, n.2, p.1108-1112, 2009.
19. Müller, M.A.; Mioranza, T.M.; Fuchs, F.; Battistus, A.G.; Stangarlin, J.R.; Kuhn, O.J. Mortalidade e motilidade de *Meloidogyne incognita* em extrato aquoso de alecrim. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.13, p.343-346, 2014. Suplemento.
20. Pitarokili, D.; Tzakou, O.; Loukis, A. Composition of the essential oil of spontaneous *Rosmarinus officinalis* from Greece an antifungal activity against phytopathogenic fungi. **Journal of Essential Oil Research**, Wheaton, v.20, n.5, p.457-459, 2008.
21. Röder, C.; Stangarlin, J.R.; Pazuch, D.; Franzener, G.; Schwan-Estrada, K.R.F. Controle alternativo de podridões no morango com tratamentos em pré-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.32, p.201, 2007. Suplemento.
22. Santos, B.T.; Bonaldo, S.M.; Schwan-Estrada, K.R.F. Óleos essenciais de espécies florestais e medicinais no controle da ramulose (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*) em algodão. **Cadernos de Agroecologia**, Fortaleza, v.6, n.2, p.1-4, 2011.
23. Scapin, C.R.; Carnelossi, P.R.; Vieira, R.A.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Cruz, M.E.S. Fungitoxidade *in vitro* de extratos vegetais sobre *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.12, n.1, p.57-61, 2010.
24. Stangarlin, J.R.; Kuhn, O.J.; Assi, L.; Schwan-Estrada, K.R.F. Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.). **Science Against Microbial Pathogens: communicating current research and technological advances**. Badajoz: Formatex, 2011. p.1033-1042.
25. Tagami, O.K.; Gasparin, M.D.G.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Cruz, M.E.S.; Itako, A.T.; Tolentino Junior, J.B.; Moraes, L.M.; Stangarlin, J.R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, n.2, p.285-294, 2009.
26. Vigo-Schultz, S.C.; Maringoni, A.C.; Câmara, R.C.; Dezordi, C. Atividade *in vitro* de óleos essenciais sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.32, p.20, 2006. Suplemento.
27. Vigo, S.C.; Maringoni, A.C.; Câmara, R.C.; Lima, G.P.P. Ação de tinturas e óleos essenciais de plantas medicinais sobre o crestamento bacteriano comum do feijoeiro e na produção de proteínas de indução de resistência. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.35, n.4, p.293-304, 2009.