

POTENCIALIDADES DE EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE COENTRO, ORÉGÃO E POEJO COMO MEIO DE PROTECÇÃO CONTRA BACTERIOSES DO TOMATEIRO

POTENTIAL OF EXTRACTS AND ESSENCIAL OILS OF CORIANDER, OREGANO AND PENNYROYAL FOR THE PROTECTION AGAINST PHYTOPATHOGENIC BACTERIA OF TOMATO

Luísa Moura^{1,2}, Custódia Barros³, Isabel Mourão^{1,2} e Olívia Matos⁴

RESUMO

Os objetivos do estudo foram a avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* e das potencialidades de utilização de extratos etanólicos e de óleos essenciais de coentro, orégão e poejo, na protecção contra a doença da medula negra do tomateiro causada por *Pseudomonas corrugata* e *P. mediterranea*, e contra a doença da pinta negra do tomateiro, causada por *P. syringae* pv. *tomato*. Os resultados *in vitro*, mostram que os extratos e os óleos essenciais apresentaram atividade antimicrobiana, inibindo o crescimento destas bactérias. Os resultados dos ensaios *in planta* indicaram que, em condições de produção de tomate em estufa, os extratos etanólicos e óleos essenciais de coentro, orégão e poejo apresentam interesse como meios de protecção contra a doença da medula negra do tomateiro e a doença da pinta negra do tomateiro, sendo alternativa à tradicional utilização de oxiclureto de cobre.

Palavras-chave: Actividade antibacteriana, *Coriandrum sativum*, *Mentha pulegium*, *Origanum vulgare*, planta aromática e medicinal.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antimicrobial activity *in vitro* and the potential use of ethanol extracts and essential oils of coriander, oregano and pennyroyal to protect tomato against pith necrosis (TPN) caused by *Pseudomonas corrugata* or *P. mediterranea*, and against *P. syringae* pv. *tomato*. Under *in vitro* experimental conditions it is concluded that extracts and essential oils studied have biological potential, inhibiting, in appropriate concentrations, the growth of phytopathogenic microorganisms. Trials conducted in the greenhouse revealed that the application of ethanolic extracts and essential oils of coriander, oregano and pennyroyal, compared to the application of copper oxychloride, resulted in similar effects on disease incidence and severity, indicating that under greenhouse condition, these plant extracts may be an alternative to the use of copper compounds in the control of these diseases of tomato.

Keywords: Antibacterial activity, *Coriandrum sativum*, medicinal and aromatic plants *Mentha pulegium*, *Origanum vulgare*.

¹ Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - Instituto Politécnico de Bragança Campus de St^a Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, luisamoura@esa.ipvc.pt

² Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima

³ Associação de Pais e Amigos de Crianças Inadaptadas, R. Pedro Álvares Cabral, N^o118 1^oC 4750-197 Arcozelo Barcelos

⁴ Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P., Instituto Nacional de Investigação Agrária, Quinta do Marquês, Av. da República, Nova Oeiras 2784-505 Oeiras

INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é atualmente uma das hortícolas mais consumidas a nível mundial, quer em fresco quer após transformação e processamento industrial, devido à menor perecibilidade comparativamente com outras hortícolas, à versatilidade da sua utilização e ao seu valor alimentar. Porém, as infeções causadas por bactérias, fungos, vírus ou nemátodes, causam prejuízos económicos elevados, representando um problema grave da produção de tomate.

Os meios de protecção disponíveis contra bactérias que causam doenças no tomateiro são reduzidos, principalmente no modo de produção biológico. Este problema deve-se à escassez de compostos antibacterianos comerciais adequados e eficazes. A utilização de antibióticos, além de proibida em muitos países, pode não ser eficaz. As aplicações de compostos de cobre podem ser eficazes para reduzir o estabelecimento do inóculo, no entanto, é conhecida a resistência de certas bactérias ao cobre. Adicionalmente, estes compostos apresentam vários problemas de fitotoxicidade, acumulação no solo e necessidade de se efectuarem aplicações frequentes. Além destes aspectos, crescem as restrições europeias recentes, que limitam o uso de sais de cobre (Balestra *et al.*, 2009).

No contexto atual, em que a opinião pública manifesta grande preocupação relativamente à utilização de pesticidas e à presença dos seus resíduos nos alimentos, bem como relativamente aos seus impactos negativos causados no ambiente, a investigação sobre o uso de extratos de plantas assume especial relevância (Lo Cantore *et al.*, 2004; Matos, 2010).

As plantas aromáticas (PAM) caracterizam-se por segregarem e acumularem óleos essenciais em estruturas especializadas. Estes óleos são constituídos por compostos voláteis pertencentes a vários grupos químicos, arrastáveis pelo vapor de água, praticamente insolúveis na água mas solúveis nos solventes orgânicos e nas gorduras (Cunha *et al.*, 2007).

Dada a importância da cultura do tomateiro em Portugal e sabendo-se que, de entre os factores bióticos que conduzem a prejuízos nesta cultura (Cruz, 2010; Moura *et al.*, 2004), se destacam as doenças causadas por bactérias, este trabalho teve como objectivo estudar as potencialidades antimicrobianas *in vitro* de *Coriandrum sativum* L., *Origanum vulgare* L. e *Mentha pulegium* L. relativamente às bactérias *P. corrugata*, *P. mediterranea* e *P. syringae* pv. *tomato* e como meio de protecção contra as doenças que estas bactérias causam no tomateiro, em comparação com o padrão oxiclureto de cobre.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Os extratos e óleos essenciais de *C. sativum* L. (coentro), *O. vulgare* L. (orégão) e *M. pulegium* L. (poejo) foram fornecidos, em parte, pelo Departamento de Fisiologia Vegetal (INRB L-INIA) e outra parte (coentro), produzidos de acordo com o modo de produção biológico, na quinta pertencente à associação de pais e amigos de crianças inadaptadas, em Barcelos. No caso dos extratos e óleos essenciais de orégão e poejo, foram também utilizadas formulações antibacterianas comerciais (produzido de acordo com o modo produção biológico). Para a obtenção de extratos e óleos essenciais de poejo, foram ainda colhidas plantas numa área de vegetação espontânea, localizada na freguesia de Anjo do concelho de Vieira do Minho. O material vegetal colhido, folhas, flores e sementes, foi seco à sombra, em local arejado e à temperatura ambiente, moído manualmente antes de proceder à preparação das diferentes formulações obtidas por diferentes métodos de extracção e testados em diferentes concentrações (Quadro 1). Os extratos etanólicos foram obtidos por contacto com o solvente, enquanto os óleos foram obtidos por arrastamento de vapor em Clavanger.

Os extratos aquosos de *O. vulgare* foram obtidos a partir de 100 g de material vegetal

Quadro 1 – Espécie vegetal, parte da planta utilizada, formulação antibacteriana, técnica de extração, concentração e doses (*x*, *nx*) utilizadas nos ensaios de bioactividade

Espécie vegetal (parte da planta)	Concentração		Volume (µl)			
	Extrato (mg/mL)	Óleo essencial (% v/v)	Extrato		Óleo essencial	
			<i>x</i>	<i>nx</i>	<i>X</i>	<i>Nx</i>
Coentro (semente)	50	100*	100	150	10	15
Orégão (sumidade)	50	100*	100	150	10	15
Poejo (sumidade)	50	100*	100	150	10	15

*Produto bruto (concentração da substância activa não determinada)

(sumidades de orégãos) em 500 mL de água destilada, por maceração a frio durante 24 horas, à temperatura ambiente e em escuro, e a quente, por fervura durante 20 minutos e repouso durante 3 horas. Os extratos foram concentrados num evaporador rotativo sob vácuo (Quadro 2).

Os extratos etanólicos e óleos essenciais foram obtidos a partir de *C. sativum*, *O. vulgar* e *M. pulegium*. Os extratos etanólicos foram obtidos de modo semelhante ao descrito para o extrato aquoso a frio e os óleos essenciais foram obtidos por arrastamento de vapor, em Clavager, conforme descrito por Barros *et al.* (2011).

Estirpes bacterianas, meios de cultura e inoculação

Foram seleccionadas três bactérias patogénicas do tomateiro, duas bactérias responsáveis pela medula negra do tomateiro, *P. corrugata* (estirpe A344) e *P. mediterranea* (estirpe A54) isoladas em Portugal (Moura, 2005) e a estirpe tipo de *P. syringae* pv. *tomato* (LMG 5039). Os meios de cultura foram,

respectivamente, LPGA e King B e a temperatura de incubação de 28°C.

Ação antibacteriana de extratos vegetais e óleos essenciais *in vitro*

Para o estudo de actividade antibacteriana *in vitro*, foram utilizadas culturas puras com 24 horas de crescimento das estirpes referidas. Prepararam-se suspensões bacterianas cuja concentração foi ajustada a 10⁸ ufc ml⁻¹. Placas, com meio de cultura apropriado, foram inoculadas com 100 µl de cada suspensão bacteriana. Após 24-48 horas, os extratos aquosos e etanólicos foram aplicados em orifícios no agar (10 mm Ø), duas doses por placa (Quadros 3 e 4). Por cada modalidade foi preparada a testemunha só com água esterilizada. Os ensaios com os óleos essenciais foram realizados por difusão em discos de papel (5 mm Ø), colocados sobre a superfície do meio de cultura, em placas preparadas como anteriormente descrito. Tanto os extratos como os óleos foram testados na inibição de *P. corrugata*-A344, *P. mediterranea*-A54 e *P. syringae* pv. *tomato*.

Quadro 2 – Técnica de extração, concentração e doses (*x*, *nx*) utilizadas nos ensaios de bioactividade de extratos aquosos de orégão

Técnica de extração	Concentração (mg ml ⁻¹)		Volume utilizado (µl)	
	Inicial	Extrato concentrado	<i>x</i>	<i>nx</i>
Extracção a frio	20,73	157,43	100	250
Extracção a quente	67,61	76,6	100	250

to -LMG 5039. Cada ensaio foi realizado em triplicado.

A actividade antibacteriana foi avaliada com base no diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano, após incubação a 28°C, até uma fase de crescimento exponencial. Os dados foram analisados utilizando o software SPSS 12.0. Quando os pressupostos da ANOVA foram verificados, efectuou-se a análise da variância e as médias dos halos de inibição foram comparados pelo teste da diferença mínima significativa (LSD). Os testes estatísticos de Mann-Whitney foram utilizados quando não se verificaram os pressupostos necessários à realização da ANOVA.

Acção antibacteriana *in planta* - ensaio em estufa

Uma parte do trabalho experimental decorreu numa estufa com cobertura de polietileno, pertencente à Associação de Pais e Amigos de Crianças Inadaptadas do concelho de Barcelos, durante Agosto a Outubro de 2010. Plantas de tomateiro da cultivar Marmande com 20 dias, obtidas por sementeira, foram transplantadas para vasos de 10 litros de capacidade. Após 3 dias, quando as plantas apresentavam 8 a 9 folhas, procedeu-se à sua pulverização até ao ponto de escorrimento (Balestra *et al.*, 2009) com os extratos etanólicos (5 mg ml⁻¹) e óleos essenciais (0,1%) de coentro, orégão e poejo, no volume de 25 mL por planta. Como padrão, as plantas foram pulverizadas com oxicloreto de cobre (2,5 g l⁻¹). O estudo relativo à doença da pinta negra do tomateiro (*P. syringae* pv. *tomato*) decorreu na estufa de polietileno pertencente à ESAPL, durante Setembro a Novembro de 2011, tendo-se utilizado plantas de tomateiro da cultivar Coração de Boi. O ensaio decorreu em vasos e a metodologia utilizada para pulverização dos tomateiros foi a já descrita para a cultivar Marmande.

Produção de inóculo e inoculação de tomateiros

As suspensões utilizadas (108 ufc ml⁻¹) para inoculação de tomateiros foram prepara-

das a partir de culturas bacterianas com 24 horas de crescimento a 28 °C, em meio LPGA e King B de acordo com procedimento descrito previamente. Após 72 horas, procedeu-se à inoculação dos tomateiros com as estirpes A344 de *P. corrugata*, A54 de *P. mediterranea* e LMG 5039 de *P. syringae* pv. *tomato*. Pelo facto de *P. corrugata*-A344 e *P. mediterranea*-A54 serem bactérias que colonizam a medula do tomateiro e os tecidos vasculares da planta, manifestando os sintomas típicos da doença no interior do caule, os tomateiros foram inoculados por injeção no caule, utilizando 0,5 ml de cada suspensão bacteriana (Moura, 2005). A inoculação de *P. syringae* pv. *tomato* foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Balestra *et al.* (2009), pulverizando uniformemente as folhas de tomateiro com 1,5 ml de inóculo por planta.

Como testemunha, o mesmo número de plantas foi inoculado com água destilada esterilizada, tendo-se inoculado, no total, 96 plantas. Após a inoculação, os tomateiros foram regados e cobertos, durante 2 dias, com o filme de polietileno transparente, para criar condições favoráveis à infecção das plantas. Por cada tratamento (espécie vegetal, extrato/óleo essencial) ou estirpe bacteriana, utilizaram-se 4 plantas (uma planta por vaso).

Avaliação da acção antibacteriana de extratos vegetais e óleos essenciais em plantas de tomateiro

O efeito da aplicação de extratos etanólicos e óleos essenciais de coentro, orégão e poejo na severidade da doença da medula negra, causada por *P. corrugata* e *P. mediterranea* (ensaio 1) foi avaliado 60 dias após a inoculação dos tomateiros, através da observação dos sintomas internos e da medição do comprimento da lesão total (cm) no interior do caule, desenvolvida a partir do ponto de inoculação. O efeito da aplicação de extratos etanólicos e óleos essenciais de coentro, orégão e poejo na doença da pinta negra do tomateiro, causada por *P. syringae* pv. *tomato* (ensaio 2) foi avaliado 15 dias após inoculação das folhas, através da observação e registo da presença de lesões típicas na sua superfície. A incidência

da doença (ID) foi determinada pelo número de folíolos com sintomas por cada planta inoculada e a severidade da doença (SD) foi determinada pelo número de necroses por folíolo por cada planta inoculada.

O delineamento experimental (ensaio 1) consistiu num ensaios em vasos com 4 blocos causalizados e 24 tratamentos diferentes, resultantes da seguinte estrutura fatorial com 3 fatores:

Fator 1: espécies vegetais com 3 níveis (coentro, orégão e pejo);

Fator 2: espécies bacterianas com 2 níveis: *P. corrugata* e *P. mediterranea*);

Fator 3: formulações antibacterianas com 4 níveis [extratos etanólicos, óleos essenciais, oxicleto cobre (padrão) e água (testemunha)].

O ensaio 2 foi idêntico, tendo o fator 2, apenas 1 nível: *P. syringae* pv. *tomato*.

Os dados foram analisados utilizando o software SPSS 12.0. Efetuou-se a análise de variância e as médias das populações foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa (LSD).

A classificação toxicológica e ecotoxicológica do oxicleto de cobre apresentam-se no Quadro 3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Extratos aquosos

Os resultados dos testes de ação antibacteriana *in vitro*, são apresentados nas Figuras 1, 2 e 3.

Não se observaram diferenças significativa entre os resultados dos extratos obtidos a frio e a quente para qualquer das espécies. Após aumento da concentração (76,6 mg ml⁻¹ na formulação obtida a quente e 157,43 mg ml⁻¹ na formulação obtida a frio), evidenciou-se a actividade do extrato de orégão obtido a quente (Figura 1), tendo *P. syringae* pv. *tomato* apresentado halos de inibição significativamente maiores ($p < 0,05$) do que os observados nas estirpes A344 de *P. corrugata* e A54 de *P. mediterranea*. O aumento da concentração do extrato aquoso de orégão a frio, revelou alguma atividade inibitória consistente 48 horas após incubação apenas no caso das bactérias *P. mediterranea* e *P. syringae* pv. *tomato*.

Os extratos aquosos de orégão obtidos a quente na dose de 250 µl inibem o crescimento das 3 bactérias, 48 horas após incubação. As inibições bacterianas mais significativas verificaram-se a quente, sobretudo sobre *P. syringae* pv. *tomato*, 48 horas após incubação (20, 87±4,26mm).

Extratos etanólicos

A atividade antibacteriana dos extratos etanólicos de coentro, orégão e pejo (Figura 2a), expressa a significância dos resultados observados. Das 3 espécies de plantas utilizadas, conclui-se que os extratos etanólicos de coentro são os que têm maior actividade biológica *in vitro*, excepto contra a bactéria *P. syringae* a qual foi também 100% inibida com os extratos de orégão e de pejo.

Quadro 3 – Classificação toxicológica e ecotoxicológica do oxicleto de cobre (pó molhável), (Oliveira e Henriques (2011).

Teor em substância activa	Classificação	
	Toxicológica	Ecotoxicológica
50% (p/p)	Xn	N

Xn - Nocivo; N - Perigoso para o ambiente

Frases de risco - R20; R50/53 ou R22; R50/53 ou R22+R36+R42/43; R50/53 ou R20/21/22; R50/53 ou R20/22; R50/53

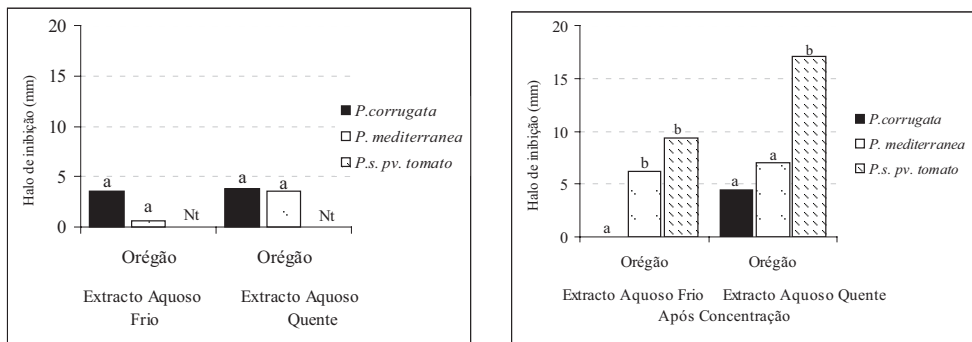


Figura 1 - Atividade antibacteriana de extratos aquosos de orégão, a quente e a frio, antes (a) e após (b) concentração dos extratos. Valores do halo de inibição de *P. corrugata*-A344, *P. mediterranea*-A54 e *P. syringae* pv. *tomato* nas diferentes concentrações. Para cada método de extração, colunas com diferentes letras são significativamente diferentes para $p < 0,05$, de acordo com o teste da diferença mínima significativa ou Mann-Whitney. Nt-não testado.

A bactéria *P. syringae* pv. *tomato* foi a mais sensível à acção dos extratos etanólicos de orégão e poejo. Não se registaram diferenças significativas entre as bactérias com a aplicação do extrato etanólico de coentro. Contrariamente, a utilização de orégão e poejo, inibiu de forma significativamente diferente o crescimento das estirpes A344 de *P. corrugata*, A54 de *P. mediterranea* e LMG 5039 de *P. syringae* pv. *tomato*.

Óleos essenciais

A actividade antibacteriana dos óleos essenciais testados quanto às suas potencialidades de inibição do crescimento *in vitro* das bactérias *P. corrugata*, *P. mediterranea* e *P. syringae* pv. *tomato* evidencia a maior susceptibilidade de *P. syringae* relativamente aos diferentes óleos essenciais, sendo *P. mediterranea* a menos susceptível (Figura 2b).

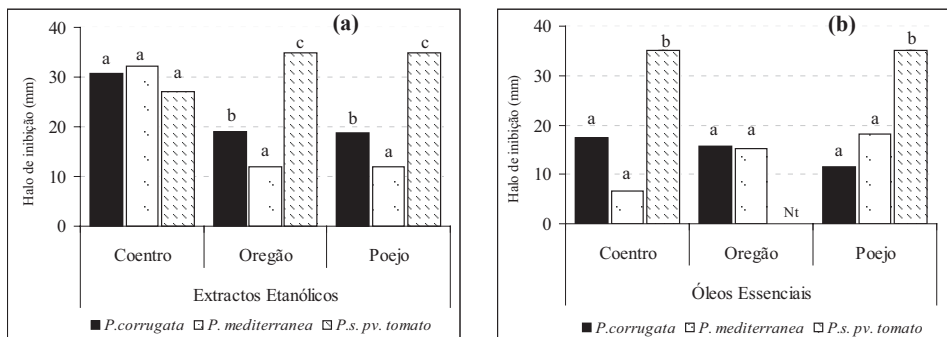


Figura 2 - Acção dos extratos etanólicos (a) e de óleos essenciais (b) sobre as bactérias *P. corrugata*-A344, *P. mediterranea*-A54 e *P. syringae* pv. *tomato*-LMG 5039, após incubação a 28°C. Para cada espécie vegetal, colunas seguidas de diferentes letras são significativamente diferentes para $p < 0,05$, de acordo com o teste da diferença mínima significativa ou Mann-Whitney.

O facto dos óleos essenciais terem sido mais abrangentes quanto à actividade antimicrobiana era esperado, pois são conhecidos pela sua actividade antimicrobiana e potencialidades no controlo de doenças de plantas causadas por bactérias (Magro *et al.*, 2008, Matos, 2010). O óleo essencial de coentro foi o mais eficaz na inibição do crescimento das bactérias, sendo este resultado mais evidente na espécie *P. syringae* pv. *tomato*, que registou 100% de inibição. Contrariamente, a utilização de oregão e poejo, inibiu de forma significativamente diferente o crescimento das estirpes A344 de *P. corrugata*, A54 de *P. mediterranea* e a estirpe LMG 5039 de *P. syringae* pv. *tomato* (Figura 2b).

Actividade antibacteriana *in planta*

A análise dos resultados obtidos no estudo de bioactividade de extratos etanólicos e óleos essenciais, obtidos *in planta* sobre *P. corrugata* e *P. mediterranea* (Figura 3 e Quadro 4) evidenciou que a doença causada por estas duas espécies bacterianas traduziu-se, em média, por lesões de $2,21 \pm 1,43$ cm, e $3,21 \pm 2,08$ cm, respectivamente. A severidade da doença causada por *P. corrugata*-A344 e *P. mediterranea*-A54, referida nas Figuras 3a e 3b mostra que não houve diferenças

significativas entre as espécies bacterianas, quando submetidas à aplicação dos de extratos etanólicos, óleos essenciais e oxicleto de cobre, não existindo interação entre as diferentes formulações antibacterianas e as duas espécies bacterianas (Figura 3a). As plantas testemunha, pulverizadas apenas com água, sofreram danos por infecções criptogâmicas, que por terem interferido no crescimento dos tomateiros foram excluídas desta análise.

Apesar dos sintomas da doença causada pelas bactérias *P. corrugata* e *P. mediterranea* terem sido idênticas às referidas por outros autores (Lopez *et al.*, 1994; Moura, 2005), a severidade da doença foi claramente inferior à descrita em estudos realizados com as mesmas estirpes bacterianas na região de Ponte de Lima (Moura *et al.*, 2005). Este facto poderá ser justificado pela suscetibilidade das cultivares, e devido à época do ano em se realizaram os diferentes ensaios em estufa.

Os resultados do estudo de bioactividade obtidos *in planta* sobre *P. syringae* pv. *tomato* (estirpe LMG 5039) não mostram diferenças significativas da incidência da doença (Figura 4 e Quadro 5). A severidade com que a doença se manifestou também não registou qualquer diferença entre os tomateiros pulverizados com os extratos etanólicos, óleos essenciais ou oxicleto

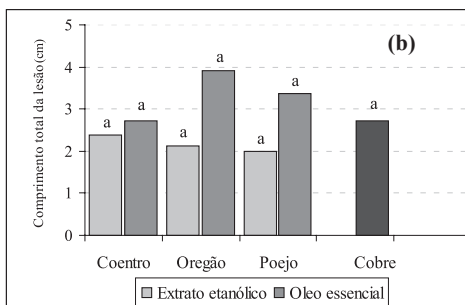
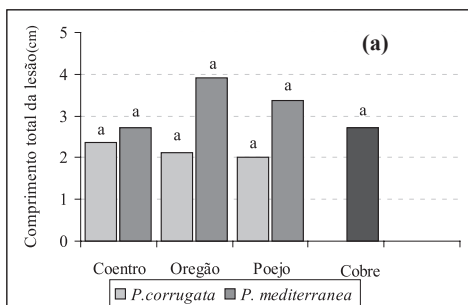


Figura 3- Severidade de *P. corrugata*-A344 e *P. mediterranea* – A54, em plantas de tomateiro da cultivar Marmande. Para cada formulação antibacteriana e oxicleto de cobre colunas seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes para $p < 0,05$, de acordo com a diferença mínima significativa.

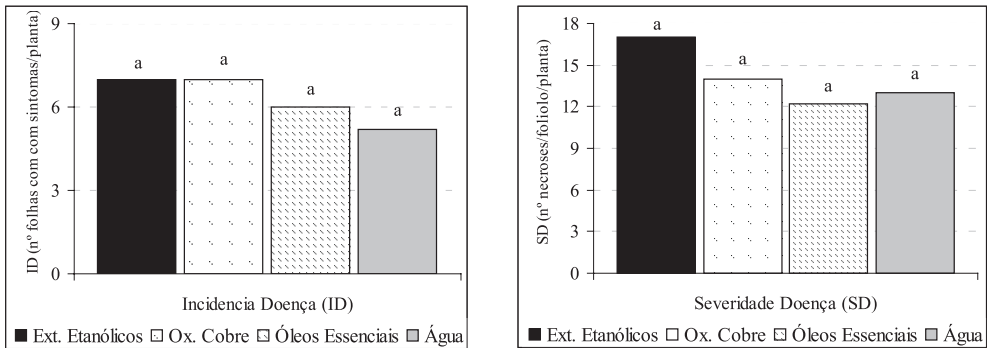


Figura 4 - Incidência e severidade de *P. syringae* pv. *tomato* em plantas de tomateiro da cultivar Coração de Boi. Para cada formulação antibacteriana, colunas seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes para $p < 0,05$, de acordo com a diferença mínima significativa.

Quadro 5 – Incidência e severidade da pinta negra do tomateiro após tratamento com extratos e óleos essenciais de coentro, orégão, poejo, com oxiclreto de cobre e água.

Formulação antibacteriana	Espécie vegetal	Incidência da doença da pinta negra do tomateiro (média±SD)	Severidade da doença da pinta negra do tomateiro (média±SD)
Extrato etanólico	Coentro	7,8 ± 2,5	23,0 ± 8,2
	Orégao	6,5 ± 1,9	11,0 ± 5,9
	Poejo	7,0 ± 1,8	16,8 ± 7,5
Óleo essencial	Coentro	5,0 ± 0,0	11,8 ± 2,1
	Orégao	7,0 ± 5,0	11,3 ± 12,5
	Poejo	5,8 ± 1,7	13,7 ± 2,6
oxiclreto de cobre (padrão)		7,0 ± 2,1	14,0 ± 9,9
Água (testemunha)		5,0 ± 1,4	13,0 ± 4,1

de cobre (padrão) e os tomateiros inoculados sem qualquer tratamento (testemunha).

CONCLUSÃO

Os ensaios realizados *in vitro*, mostram que os extratos aquosos e etanólicos, e os óleos essenciais obtidos a partir de *C. sativum*, *O. vulgare* e *M. pulegium* apresentam actividade antimicrobiana, inibindo o crescimento de *P. corrugata*, *P. mediterranea*, *P. syringae* pv. *tomato*, bactérias patogénicas do tomateiro. A actividade antibacteriana de *Mentha pulegium* contra os agentes res-

ponsáveis da medula negra do tomateiro (*P. corrugata* e *P. mediterranea*) e da doença da pinta negra (*P. syringae* pv. *tomato*) foi demonstrada pela primeira vez.

Nos ensaios realizados *in planta*, os extratos etanólicos e os óleos essenciais de coentro, orégão e poejo conduziram a resultados não concordantes com os obtidos *in vitro*. Nas condições experimentais, e no caso da doença da medula negra do tomateiro, a pulverização de tomateiros com extratos etanólicos e óleos essenciais de coentro, orégão e poejo, teve efeito idêntico ao obtido com o padrão oxiclreto de cobre, podendo ser alternativa a este composto de cobre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cunha, A., Ribeiro, J.A. e Roque, O.R. (2007) - *Plantas aromáticas em Portugal. Caracterização e Utilizações*. Lisboa, Fundação Gulbenkian, 328pp.
- Balestra, G.M., Heydari, A., Ceccarelli, D., Ovidi, E. e Quattrucci, A. (2009) - Antibacterial effect of *Allium sativum* and *Ficus carica* extracts on tomato bacterial pathogens. *Crop Protection*, 28: 807-811.
- Barros, C., Moura, L., Brito, L.M. e Matos, O. (2011) - Actividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de coentro, orégão e poejo, e seu potencial para a protecção das culturas em horticultura biológica. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 17: 74-79.
- Cruz, L.; Cruz, J.; Eloy, M.; Oliveira, H.; Vaz, H. e Tenreiro, R. (2010) - First Report of Bacterial Speck of Tomato Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Race 1 in Portugal. *Plant disease*, 94, 12: 1504-1505. < <http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-06-10-0415> >.
- Lo Cantore, P.; Iacobellis, N. S.; De Marco, A.; Capasso, F. e Senatore, F. (2004) - Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller Var. *vulgare* (Miller) Essential Oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52: 7862-7866.
- Lopez, M.M., Siverio F., Albiachi M.R., Garcia F. e Rodriguez R. (1994) - Characterization of Spanish isolates of *Pseudomonas corrugata* from tomato and pepper. *Plant Pathology*, 43: 80-90.
- Magro, A.; Matos, O.; Carolino, Bastos, M. e Mexia, A. (2008) - Efeito de óleos essenciais e extratos vegetais no crescimento de fungos micotoxigénicos. In: *Actas do I Congresso Nacional de Produção Integrada/ VIII Encontro Nacional de Protecção Integrada*. ESAPL/IPVC, 103 p.
- Matos, O. (2010) - Fotopesticidas: compostos com actividade biológica activada pela luz e seu potencial para protecção das culturas agrícolas. *Revista da APH*, 98: 32-36.
- Moura, L. (2005) - *Diversidade genética e fenotípica de P. corrugata e P. mediterranea agentes da medula negra do tomateiro. Importância da colonização assintomática e da temperatura no desenvolvimento da doença*. Tese de Doutoramento em Engenharia Agronómica. ISA/UTL, 295 p.
- Moura, L., Jacques, M.-A, Brito, M., Mourão, I. e Duclos, J. (2005) - Tomato Pith Necrosis (TPN) Caused by *P.corrugata* and *P. mediterranea*: Severity of Damages and Crop Loss Assessment. *Acta Horticulturae*, 695: 365-372
- Oliveira, A. B. e Henriques, M. (2011) - *Guia dos produtos fitofarmacêuticos. Lista dos produtos com venda autorizada*. Lisboa, Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural, 221 p.