

Óleo essencial de alecrim no controle de doenças da videira cultivar Cabernet Sauvignon

Carla Garcia¹, Marcos Vinicius Horst¹, Aline José Maia¹, Carla Daiane Leite²,
Cacilda Márcia Duarte Rios Faria¹, Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada³

¹ Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Agronomia, Rua Simeão Varela de Sá, 03, Cascavel, CEP 85040-080, Guarapuava-PR, Brasil. Caixa Postal 3010. E-mail: carlagarciaagro@gmail.com; marcoshorst@hotmail.com.br; alymaia2005@yahoo.com.br; criosfaria@hotmail.com

² Cooperativa Agrária Agroindustrial, Rua 5 de Maio, 745, Colônia Vitória - Entre Rios, CEP 85139-400, Guarapuava-PR, Brasil. E-mail: cdaianeite@hotmail.com

³ Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Agronomia, Av. Colombo, 5790, Universitário, CEP 87020-900, Maringá-PR, Brasil. E-mail: krfsestrada@uem.br

RESUMO

As doenças fúngicas são um dos principais problemas de interesse econômico na viticultura, devido às grandes perdas registradas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi testar o óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), no controle da antracnose e do mildio da videira. As concentrações de 0, 500, 1000, 2000 e 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ desse óleo essencial foram utilizadas nos seguintes experimentos: crescimento micelial e esporulação de *Elsinoe ampelina*, germinação de esporângios de *Plasmopara viticola* e a avaliação da severidade da antracnose e do mildio da videira a campo. Observou-se que a concentração de 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial, reduziu em 21% o crescimento micelial de *E. ampelina*, porém nenhum dos tratamentos apresentou diferença estatística para esporulação desse patógeno. Para a germinação de *P. viticola* não houve diferença entre os tratamentos. Em condições de campo, verificou-se que a concentração de 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$, proporcionou redução de aproximadamente 91% da Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD) da antracnose da videira. Porém para o mildio, não foi relatada diferença estatística. Dessa maneira, a concentração de 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de alecrim, foi eficiente no controle direto sobre *E. ampelina*, tanto *in vitro* quanto em campo, mostrando ter grande potencial no manejo integrado de doenças.

Palavras-chave: controle alternativo; *Rosmarinus officinalis*; *Vitis vinifera*

Essential oil of rosemary in the control of the diseases of the vine cultivar Cabernet Sauvignon

ABSTRACT

Fungal diseases are one of the main problems of economic interest in viticulture due to the great losses recorded this sense. The purpose of this work was to test the essential oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*), without control of anthracnose and of the downy mildew of the vine. The concentrations of 0, 500, 1000, 2000 and 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ of essential oil were used for the following experiments: mycelial growth and sporulation of *Elsinoe ampelina*, germination of sporangium *Plasmopara viticola* and the evaluation of the severity of anthracnose and downy mildew from the field. It was observed that a concentration of 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ of essential oil, reduced 21% the mycelial growth of *E. ampelina*, none of the treatments has presented statistic difference for sporulation of this pathogen. For a germination of *P. viticola* there was not difference between the treatments. Under field conditions, it was found that a concentration of 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ provided a reduction of about 91% of the Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC) of anthracnose of the vine. However, for mildew, no statistical difference was reported. Thus, a concentration of 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ of essential oil of rosemary was efficient with direct control over *E. ampelina*, as wel *in vitro* as in the field, showing great potential with integrated management of diseases.

Key words: alternative control; *Rosmarinus officinalis*; *Vitis vinifera*

Introdução

A videira é uma cultura de grande importância no Brasil, principalmente nas regiões de Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Dentre as cultivares mais utilizadas, pode-se ressaltar a Cabernet Franc, a Merlot e Cabernet Sauvignon (Martins et al., 2014).

Uma das maiores dificuldades para a produção da uva se deve aos fenômenos naturais, resultando em um ambiente favorável para o desenvolvimento de doenças (Mota et al., 2008). Dentre as mais prejudiciais, destacam-se, a antracnose (*Elsinoe ampelina* (de Bary) Shear) e o míldio da videira (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni), que em alguns casos, devido à severidade, são destinadas até 30% do custo da produção da uva para seu controle (Glessler et al., 2011; Carisse & Morissette-Thomas, 2013).

A antracnose, dependendo das condições favoráveis de temperatura e umidade, apresenta alto poder destrutivo. Ataca todas as partes verdes da planta, porém nas inflorescências estão localizados os piores danos (Carisse & Morissette-Thomas, 2013), e o míldio atinge principalmente as folhas, reduzindo a área fotossintética ativa, e dessa forma acarreta perdas de 50% a 75% na produção da videira (Glessler et al., 2011).

O controle destas doenças baseia-se na utilização de fungicidas sintéticos, que apesar de eficientes, podem causar problemas a saúde dos produtores e consumidores, bem como ao ambiente e elevado custo na produtividade (Tripathi et al., 2008).

Para tentar reduzir estes inconvenientes e contribuir para que o produtor obtenha maior margem de lucro, tem-se o cultivo orgânico de videiras (Comiran et al., 2012). Dentre as maneiras utilizadas para o controle de doenças nesse cultivo, destaca-se o controle alternativo, que proporciona sustentabilidade com a finalidade de redução do uso de agrotóxicos, eliminando riscos de contaminações ambientais e humanas. Nesse sentido, o emprego de óleos essenciais se destaca, por apresentar em sua composição substâncias terpênicas com ação antimicrobiana (Moura et al., 2016). Fato relatado por Maia et al. (2014a), que ao utilizarem o óleo essencial de capim-limão, na concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ obtiveram reduções de 57% na AACPD da mancha das folhas da videira, na concentração de 2000 $\mu\text{L L}^{-1}$ e de 49% para a severidade de míldio.

Neste sentido, o objetivo do trabalho foi testar o efeito *in vitro* e *in vivo* do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), no controle de *Elsinoe ampelina* e *Plasmopara viticola*, agentes causais do antracnose e míldio da videira, respectivamente, na cultivar Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.).

Material e Métodos

Obtenção dos produtos utilizados no controle dos patógenos

O óleo essencial de alecrim, utilizado neste trabalho, foi o mesmo usado por Maia et al. (2014b), o qual foi obtido por hidrodestilação, a partir de folhas secas (2 kg) ao ar, e teve seus compostos identificados com base no índice de retenção de Kovats (IK, determinado por série homóloga de

n-alcanos, analisada sob as mesmas condições experimentais), por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM). Os constituintes majoritários foram o 1,8 cineol (44,39%), cânfora (19,75%), α -pineno (12,00%), β -cariofileno (4,53%), e canfeno (4,08%), correspondendo a 65% do total do óleo.

Os tratamentos consistiram das seguintes concentrações do óleo essencial de alecrim: 0, 500, 1000, 2000 e 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$, acrescidas na mesma proporção de cada tratamento de Tween 80®, além do tratamento padrão com calda bordalesa 1:1:100 (sulfato de cobre: cal virgem: água).

Avaliação do óleo essencial de alecrim no crescimento micelial e esporulação de *Elsinoe ampelina*

Para avaliar o efeito do óleo essencial de alecrim no crescimento micelial de *E. ampelina*, foram adicionados os tratamentos, após a autoclavagem do meio de cultura BDA (Batata-Ágar-Dextrose) por 20 minutos a 120 °C e pressão de 1 atm, no meio fundente e agitado até sua homogeneização.

Em seguida os meios de cultura, foram vertidos em placas de Petri, onde foram repicados no centro, discos de 8 mm de diâmetro do micélio de *E. ampelina*, e as placas incubadas em câmara de crescimento (BOD) a 25 $\pm$ 1 °C. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos, cinco repetições e parcela experimental constituída por uma placa de Petri.

Após 48 h iniciou-se a avaliação do crescimento micelial pelo do diâmetro da colônia com auxílio de paquímetro digital. As avaliações prosseguiram a cada 24 h até que a colônia de *E. ampelina* do tratamento testemunha crescesse em toda a placa, totalizando oito avaliações. Esses dados foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial, conforme a fórmula descrita: $\text{IVCM} = \sum((D+D_a)/N)$, na qual IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial; D= diâmetro médio atual da colônia; D_a = diâmetro médio da colônia do dia anterior; N= número de dias após a inoculação (Oliveira, 1991).

Para a esporulação, após o término das avaliações do crescimento micelial, adicionou-se 10 mL de água destilada em cada placa e com alça de Drigalski retirou-se a suspensão fúngica e armazenou-se em tubo falcon. Posteriormente os esporos foram quantificados em câmara de Neubauer com auxílio de microscópio óptico.

Os resultados foram submetidos à análise de normalidade e homogeneidade e, em seguida a análise de variância, teste de Dunnett e regressão polinomial ao nível de 5% probabilidade usando o programa estatístico IBM SPSS Statistics (2013).

Efeito do óleo essencial de alecrim na germinação de esporângio de *Plasmopara viticola*

O efeito do óleo essencial de alecrim sobre *P. viticola* foi realizado pela germinação dos esporângios do oomiceto. Folhas de videira, com sintomas típicos de míldio, foram coletadas e nelas adicionou-se 100 mL de água destilada esterilizada com 20 μL de Tween 80® e, com alça de Drigalski realizou-se um esfregaço sobre as estruturas do patógeno, que consequentemente liberaram os esporângios, seguida de uma padronização da suspensão à 1×10^6 esporângios mL^{-1} com

contagem em câmara de Neubauer. Posteriormente, alíquotas de 40 µL da suspensão de esporos e outra de 40 µL da solução de cada um dos tratamentos foram adicionadas em cavidades individuais de placas de teste ELISA (Regente et al, 1997).

As placas foram incubadas em câmara de crescimento BOD, sob fotoperíodo de 12 h com temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$. A porcentagem de germinação foi determinada as 12 e 24 h para após o início do experimento, através do emprego de 20 µL do corante azul algodão de lactofenol para paralisar a germinação.

A avaliação foi realizada através da observação ao microscópio óptico com aumento de 400 vezes. Contaram-se 100 esporos aleatórios por repetição, totalizando 400 esporos por tratamento. Consideraram-se esporos germinados os esporângios que apresentavam liberação dos zoósporos. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições.

Os resultados foram submetidos à análise de normalidade, homogeneidade e, em seguida de variância, teste de Dunnett e regressão polinomial ao nível de 5% probabilidade usando o programa estatístico IBM SPSS Statistics (2013).

Efeito do óleo essencial de alecrim na severidade da antracnose e míldio da videira cultivar Cabernet Sauvignon

O experimento foi conduzido em vinhedo comercial com a cultivar Cabernet Sauvignon, em sistema convencional, no nono ano de produção, enxertadas sobre porta-enxerto '766-IAC', no espaçamento 4,0 x 1,0 m e conduzidas no sistema de latada, durante duas safras consecutivas.

O vinhedo estava localizado no município de Maringá, Paraná, Brasil, com coordenadas geográficas de $23^\circ 27' 49,86'' \text{S}$, $51^\circ 47' 18,74'' \text{O}$ e altitude de 614 m, sob o tipo climático Cfa segundo classificação de Köppen. O solo no local selecionado para o experimento foi classificado como latossolo vermelho eutroférico e nitossolo vermelho Eutroférico de textura muito argilosa e relevo plano a ondulado (Embrapa, 2006).

As pulverizações foram realizadas semanalmente com pulverizador manual até o ponto de "gotejamento", nas horas mais frescas do dia, a partir do início da brotação (estádio fenológico, ponta verde), perfazendo um total de 10 aplicações. O delineamento experimental foi em blocos casualizado com seis tratamentos e quatro repetições, e a parcela experimental foi constituída por uma planta.

Com o aparecimento dos primeiros sintomas, ocorrência natural, a severidade da antracnose e do míldio da videira, foi avaliada em três folhas, da parte mediana de quatro ramos por planta, previamente identificadas, utilizando-se escala diagramática com notas de 1 a 12, que correspondem de 0 a 100% da área lesionada (Azevedo, 1997), respectivamente. Com os dados da severidade foi determinada a área abaixo da curva de progresso das doenças (AACPC), baseado na fórmula: $\text{AACPD} = \sum (y_i + y_{i+1})/2 * (t_{i+1} - t_i)$, na qual: n = número de avaliações; y = severidade da doença (%); t = tempo (dias) (Campbell & Madden, 1990). No total foram realizadas quatro avaliações com intervalos de sete dias.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de normalidade e homogeneidade e, em seguida de variância, teste de Dunnett e regressão polinomial ao nível de 5% probabilidade usando o programa estatístico IBM SPSS Statistics (2013).

Resultados e Discussão

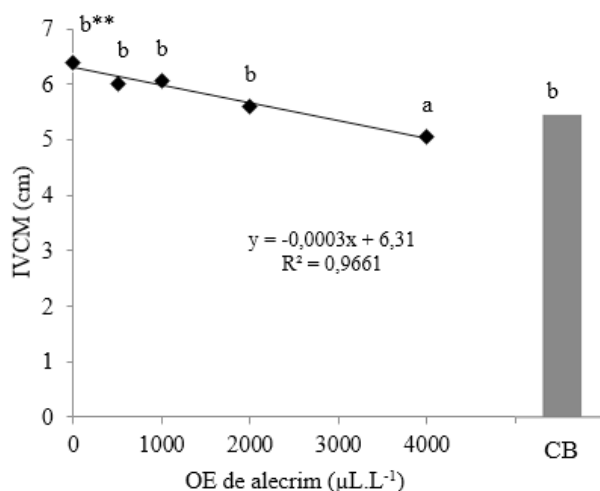
Avaliação do óleo essencial de alecrim no crescimento micelial e esporulação de *Elsinoe ampelina*

Para o índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) de *E. ampelina*, houve efeito linear negativo em função das concentrações do óleo essencial de alecrim (Figura 1). A concentração de $4000 \mu\text{L L}^{-1}$ diminuiu em 21% o crescimento do patógeno, quando comparado com a testemunha, diferindo significativamente dos tratamentos calda bordalesa e testemunha. Para a esporulação não houve diferença estatística entre os tratamentos e as médias encontradas foram: 23,5, 25,7, 29,2, 19,8 e $15,4 \text{ conídios mL}^{-1}$, para 0, 500, 1000, 2000 e $4000 \mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial, respectivamente.

O efeito fungitóxico, também foi observado por Sousa et al. (2013) que com o objetivo de avaliar a eficácia da aplicação dos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Rosmarinus officinalis* L. para inibir *Aspergillus flavus* Link e *Aspergillus niger* Van Tieghem em meios de crescimento de fungos e em *Vitis labrusca* L. (uvas de mesa), verificaram que as taxas de inibição do crescimento micelial das estirpes de fungos pós-colheita variaram de 95,18 a 99,46% na concentração de 0,25 e $1 \mu\text{L mL}^{-1}$, respectivamente. O mesmo foi observado por Andrade et al. (2016), destacando que as concentrações de 50 e $100 \mu\text{L}$ de óleo essencial de alecrim reduziram em 70 e 78% o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* de mamão.

Assim a capacidade de inibição do IVCM de *E. ampelina*, pelo óleo essencial de alecrim, provavelmente é atribuída pela presença de compostos fitoquímicos, como o 1,8 cineol, α -pineno, β -cariofileno e canfeno, os quais tem ação direta sobre o patógeno, devido a sua capacidade antimicrobiana (Arashiro et al., 2011).

Esses compostos podem apresentar a capacidade de afetar microrganismos de várias formas, como pela coagulação da membrana citoplasmática de suas células, pela quebra do fluxo de elétrons e transporte ativo desbalanceado, porém, não se



**Significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Figura 1. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Elsinoe ampelina*, submetido as concentrações de óleo essencial (OE) de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e calda bordalesa (CB).

pode dizer como cada um atua separadamente, pois, vários desses compostos trabalham de forma conjunta (Bakkali et al., 2008; Costa et al., 2011).

Efeito do óleo essencial na germinação de esporângio de *Plasmopara viticola*

A germinação de esporângios de *P. viticola* na concentração de 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo essencial de alecrim foi induzida 144% em relação ao tratamento testemunha, em 12 h do contato do patógeno com os tratamentos. Resultado similar foi observado 24 h após o início do experimento, sendo que as concentrações de 500 e 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo essencial de alecrim aumentaram em 160 e 53%, quando comparadas com a testemunha (Tabela 1), respectivamente.

Os óleos essenciais são misturas lipofílicas ricas em substâncias terpenóides, que apresentam a capacidade de induzirem efeito tóxico sobre os microrganismos, pois induzem a mudanças das propriedades da membrana plasmática de suas células (Bakkali et al., 2008). Entretanto, alguns microrganismos, podem reagir a esses efeitos, cometabolizando os compostos lipofílicos, aumentando sua solubilidade e consequentemente utilizar como substrato de fácil metabolização, como a glicose que é empregada para produzir energia por respiração celular (Onken & Berger, 1999). E como *P. viticola* é um oomiceto, que possui paredes celulares celulósicas e a sua reserva de carboidratos é em forma de glicogênio, possivelmente os terpenos presentes no óleo essencial de alecrim, serviram de substrato para o patógeno, estimulando sua germinação. A baixa germinação de *P. viticola* na concentração de 0 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo essencial de alecrim também foi observado por Silva (2012), no qual apresentou menos de 30% de germinação para 12 e 24 horas, como no presente trabalho. Outro fator limitante a ação dos metabólitos é a rápida germinação dos esporângios de oomicetos (Garcia et al., 2015).

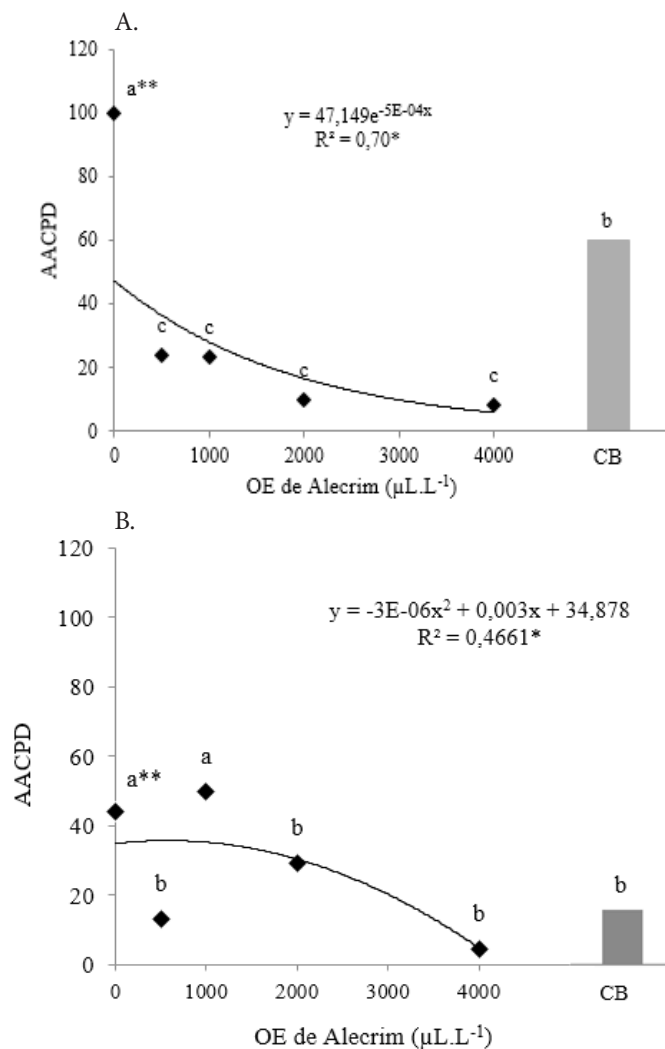
Tabela 1. Efeito das diferentes concentrações do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e calda bordalesa no percentual de germinação de esporângio de *Plasmopara viticola* em 12 e 24 h em contato com os tratamentos.

Tratamentos	Percentual de esporângio germinados (%)	
	12 h	24 h
0 μL de óleo essencial	11,6 a*	19,6 a*
500 μL de óleo essencial	21,8 a	51,0 b
1000 μL de óleo essencial	28,4 b	30,0 b
2000 μL de óleo essencial	19,4 a	17,4 a
4000 μL de óleo essencial	22,0 a	14,2 a
Calda Bordalesa	10,2 a	9,0 a
CV%	39,97	39,97
Regressão	ns	ns

ns: Não significativo pelo teste F. *: Significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Efeito do óleo essencial de alecrim na severidade da antracnose e mildio da videira cultivar Cabernet Sauvignon

Para os resultados da AACPD houve efeito quadrático em função das concentrações do óleo essencial de alecrim para a antracnose de videira em ambos os ciclos consecutivos (Figura 2A e B). As concentrações 500, 1000, 2000 e 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de alecrim apresentaram um decréscimo



**Significativo a 1% de probabilidade. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Figura 2. Efeito das concentrações de óleo essencial (OE) de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e calda bordalesa (CB) sobre a AACPD da antracnose na safra de 2011 (A) e safra de 2012 (B) de videiras cultivar Cabernet Sauvignon.

de aproximadamente 71, 75, 90 e 91%, da AACPD, respectivamente, diferindo do tratamento calda bordalesa na safra de 2011 (Figura 2A). Com o aumento da dose, houve redução exponencial da AACPD da antracnose da videira nesse período. Na safra fora de época (2012), observou-se que a concentração de 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de alecrim apresentou um decréscimo de aproximadamente 90%, quando comparada com a testemunha, não diferindo do tratamento calda bordalesa (Figura 2B). A concentração estimada de máxima redução da doença seria de 3946,2 $\mu\text{L L}^{-1}$, muito próxima da concentração de melhor resposta do experimento. Esse comportamento diferenciando entre os períodos de avaliação, provavelmente, seja referente a pressão de inóculo, uma vez que na safra fora de época boa parte do ciclo produtivo da videira ocorreu no período chuvoso (510 mm atingindo umidade relativa de aproximadamente 70% - Sistema Meteorológico do Paraná - SIMEPAR, 2012). Isto provavelmente favoreceu o aumento da severidade da doença.

Para os resultados da severidade do mildio, representados pela AACPD, não houve diferença significativa entre os

tratamentos em ambas as safras (Tabela 2), isso, possivelmente pode estar relacionado com a suscetibilidade cultivar Carbenet Sauvignon ao *P. viticola*, por se tratar de uma planta de origem europeia (Jürges et al., 2009). Entretanto, Dagostin et al. (2010), no norte da Itália, verificaram que extrato de *Salvia officinalis* L., pertencente a mesma família que o alecrim (Lamiaceae), reduziram em 63% a AACPD do míldio nas folhas de videira e 94% dessa doença nos cachos de uva cultivar Cabernet Sauvignon, a campo referente aos meses de maio a setembro, com condições similares ao presente experimento. Em estudos realizados por Maia et al. (2014b) com o objetivo de avaliar o potencial do óleo essencial de alecrim no controle da mancha-da-folha (*Pseudocercospora vitis*) e míldio (*P. viticola*), em videiras cultivar Isabel (*Vitis labrusca* L.) verificaram que as concentrações de 500 e 2000 $\mu\text{L L}^{-1}$ apresentaram decréscimo de aproximadamente de 57 e 49% na AACPD da mancha das folhas e míldio na primeira safra da cultura, e um decréscimo de 39 e 44% na AACPD destas doenças na segunda safra da cultura.

Os resultados da pesquisa demonstram que o óleo essencial de alecrim (*R. officinalis*), apresenta potencial fungitóxico sobre *E. ampelina*. Assim como também, ressalta-se que a concentração de 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ desse óleo, reduziu acima de 90% a AACPD da antracnose da videira em duas safras consecutivas. No entanto, para o míldio, não se observou este efeito, sendo que novas pesquisas com outras concentrações do óleo essencial de alecrim no controle do míldio deverão ser realizadas, buscando-se maior eficiência desse produto no manejo desta doença.

Tabela 2. Efeito das concentrações do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e calda bordalesa sobre a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em duas safras consecutivas em videiras cultivar Cabernet sauvignon.

Tratamentos	AACPD Míldio	
	Safra de 2011	Safra fora de época de 2012
0 μL de óleo essencial	1137,29 ^{ns}	1.060,53 ^{ns}
500 μL de óleo essencial	1125,74	897,53
1000 μL de óleo essencial	1350,74	975,50
2000 μL de óleo essencial	1278,39	1015,60
4000 μL de óleo essencial	1266,75	1030,19
Calda Bordalesa	1466,92	1057,13
CV (%)	26,68	57,04
Regressão	ns	ns

ns: Não significativo pelo teste F.

Conclusões

A concentração de 4000 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo essencial de alecrim reduziu o crescimento micelial *E. ampelina* e a severidade da antracnose da videira.

Os tratamentos não foram eficientes no controle do míldio da videira cultivar Cabernet Sauvignon.

Literatura Citada

- Andrade, W.P.; Vieira, G.H.C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose *in vitro* e em frutos de mamoeiro. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.18, n.1, suplemento 1, p.367-372, 2016. https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_089.
- Arashiro, M.P.; Zeroldo, D.F.; Yamaguchi, M.U.; Sardor, C.F.P.; Patroni, S.M.S.; D'Oliveira, P.S.; Cortez, L.E.R. Cultivo consorciado entre *Achillea millefolium* L. e *Rosmarinus officinalis* L. e seu efeito no rendimento do óleo essencial, biomassa e atividade antimicrobiana. Revista Saúde e Pesquisa, v.4, n.3, p.343-380, 2011. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20120514>.
- Azevedo, L.A.S. de. Manual de quantificação de doenças de plantas. São Paulo: Novartis Biociências- Setor Agro, 1997. 114p.
- Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological effects of essential oils—a review. Food and Chemical Toxicology, v.46, n.2, p.446-475, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- Campbell, C.L.; Madden, L.V. Introduction to plant disease epidemiology. New York: John Wiley, 1990. 532p.
- Carisse, O.; Morissette-Thomas, V. Epidemiology of grape anthracnose: factors associated with defoliation of grape leaves infected by *Elsinoe ampelina*. Plant Disease, v.97, n.2, p.222-230, 2013. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-12-0393-RE>.
- Comiran, F.; Bergamaschi, H.; Heckler, B.M.M.; Santos, H.P.D.; Alba, D.; Saretta, E. Microclima e produção de videiras 'Niágara Rosada' em cultivo orgânico sob cobertura plástica. Revista Brasileira de Fruticultura, v.34, n.1, p.152-159, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452012000100021>.
- Costa, A.T.; Amaral, M.F.Z.; Martins, P.M.; Paula, J.A.; Fiuza, T.S.; Tresvenzol, L.M.; Bara, M.T. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.13, n.2, p.240-245, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000200018>.
- Dagostin, S.; Formolo, T.; Giovannini, O.; Pertot, I.; Schimitt, A. *Salvia officinalis* extract can protect grapevine against *Plasmopara viticola*. Plant disease, v.94, n.5, p.575-580, 2010. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-5-0575>.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa. Sistema brasileiro de classificação de solos. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.
- Garcia, C.; Faria, C.M.D.R.; Botelho, R.V.; Leite, C.D.; Cardozo, K.de S. Óleo vegetal no controle do míldio em videiras casta 'Isabel Precoce' em sistema biológico. Ciência e Técnica Vitivinícola, v.30, n.1, p.21-28, 2015. <https://doi.org/10.1051/ctv/20153001021>.
- Glessler, C.; Pertot, I.; Perazzolli, M. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. Phytopathologia Mediterranea, v.50, n.1, p.3-44, 2011. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-9360.
- IBM SPSS Statistics. IBM Corp. Released IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp. 2013.
- Jürges, G.; Kassemeyer, H.H.; Dürrenberger, M.; Duggelin, M.; Nick, P. The mode of interaction between *Vitis* and *Plasmopara viticola* Berk. & Curt. Ex de Bary depends on the host species. Plant Biology, v.11, n.6, p.886-898, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00182.x>.

- Maia, A.J.; Oliveira, J.S.B.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Faria, C.M.R.; Batista, A.F.; Costa, W.F.; Batista, B.N. The control of isariopsis leaf spot and downy mildew in grapevine cv. Isabel with the essential oil of lemon grass and the activity of defensive enzymes in response to the essential oil. *Crop Protection*, v.63, n.9, p.57-67, 2014a. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.05.005>
- Maia, A.J.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Faria, C.M.D.R.; Oliveira, J.S.B.; Jardinetti, V.A.; Batista, B.N. Rosemary essential oil in the control of diseases and induction of resistance in grapevine. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.49, n.5, p.330-339, 2014b. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014000500002>.
- Martins, W.A.; Santos, S.C.; Smiljanic, K. Exigência térmica e produção da videira Niágara Rosada em diferentes épocas de poda no Cerrado do Brasil. *Revista de Ciências Agrárias*, v.37, n.2, p.171-178, 2014. http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2014000200007. 17 Fev. 2017.
- Mota, C.S.; Amarante, C.D.; Santos, H.D.; Zanardi, O.Z. Comportamento vegetativo e produtivo de videiras 'Cabernet Sauvignon' cultivadas sob cobertura plástica. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30, n.1, 148-153, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000100027>.
- Moura, G. S.; Jaski, J. M.; Franzener, G. Potencial de extratos etanólicos de propólis e extratos aquosos de plantas espontâneas no controle de doenças pós-colheita do morango. *Revista Verde*, v. 11, n.5, p.57-63, 2016. <https://doi.org/10.18378/rvads.v11i5.4175>.
- Oliveira, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.). Lavras: – Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1991. 117 p. Dissertação Mestrado.
- Onken, J.; Berger, R.G., Biotransformation of citronellol by the basidiomycete *Cystoderma carcharias* in an aerated-membrane bioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.51, n.2, p.158-163, 1999. <https://doi.org/10.1007/s002530051376>.
- Regente, M. C.; Oliva, C. R.; Felfeldman, M. L.; Castagnaro, A. P.; Canal, L. de la. A sunflower leaf antifungal peptide active against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Physiologia Plantarum*, v.100, n.1, p.178-182, 1997. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb03470.x>.
- Silva, C. M. da; Botelho, R. V.; Faria, C. M. D. R.; Stadler, T. P. Controle alternativo do míldio da videira com extrato aquoso de cinamomo e óleo vegetal. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.79, n.4, p.587-594, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1808-16572012000400016>.
- Sistema Meteorológico do Paraná - SIMEPAR. Clima 2012. <http://www.simepar.br/site>. 10 Jan. 2017.
- Sousa, A.C. de; Sales, N. de L.P.; De Araújo, A.V.; Caldeira Júnior, C.F. Efficacy of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils in combination to control postharvest pathogenic *Aspergillus* and autochthonous mycoflora in *Vitis labrusca* L. (table grapes). *International Journal of Food Microbiology*, v.165, n.3, p. 312-318, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.001>.
- Tripathi, P.; Dubey, N.K.; Shukla, A. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.24, n.1, p.39-46, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9435-2>.