

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”**

**FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

RÉGIS DE OLIVEIRA FIALHO

**VIABILIDADE E EFICIÊNCIA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS NO MANEJO DO MÍLDIO DA VIDEIRA
(*Vitis* spp.)**

ILHA SOLTEIRA-SP

2015

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**VIABILIDADE E EFICIÊNCIA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS NO MANEJO DO MÍLDIO DA VIDEIRA
(*Vitis* spp.)**

RÉGIS DE OLIVEIRA FIALHO

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Maria Rodrigues
Cassiolato

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Marli de Fátima
Stradioto Papa

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia – UNESP – Câmpus de Ilha
Solteira, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Especialidade:
Sistemas de Produção

ILHA SOLTEIRA

2015

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

F438v Fialho, Régis de Oliveira.
Viabilidade e eficiência de óleos essenciais no manejo do míldio da videira (*Vitis spp.*) / Régis de Oliveira Fialho. – Ilha Solteira: [s.n.], 2015
75 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistema de Produção, 2015

Orientador: Ana Maria Rodrigues Cassiolato
Co-orientador: Marli de Fátima Stradioto Papa
Inclui bibliografia

1. Produtos naturais. 2. Plasmopara viticola. 3. Efeito fungistático. 4. Persistência. 5. Mancozebe + metalaxil-M. 6. Chuva simulada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Viabilidade e eficiência de óleos essenciais no manejo do mildio da videira (*Vitis* spp.)

AUTOR: RÉGIS DE OLIVEIRA FIALHO

ORIENTADORA: Profa. Dra. ANA MARIA RODRIGUES CASSIOLATO

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. MARLI DE FATIMA STRADIOTO PAPA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA ,
Área: SISTEMAS DE PRODUÇÃO, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ANA MARIA RODRIGUES CASSIOLATO

Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. PAULO CEZAR CERESINI

Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Profa. Dra. Ana Carolina Firmino

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" / Câmpus Experimental de Dracena

Data da realização: 07 de agosto de 2015.

DEDICO

À minha família, pais e irmãs, pelo amor incondicional, força, incentivo e amizade sem igual. Sem eles nada disto seria possível.

AGRADECIMENTOS

À minha família, principalmente meus pais Dalva de Oliveira Fialho e Sebastião Joaquim Fialho e minhas irmãs Joziane Martins Fialho e Gláucia de Oliveira Fialho pela confiança depositada em meus estudos.

À Prof^a. Dr^a. Ana Maria Rodrigues Cassiolato pela oportunidade, orientação, paciência e confiança.

À Profa. Dra. Marli de Fátima Stradioto Papa por seus valiosos ensinamentos durante os anos de graduação, mestrado e pelo apoio e amizade.

À Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, pela oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pela concessão da bolsa de Mestrado (2013/02780-3).

Aos membros da banca, Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini (UNESP-FEIS) e a Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Firmino (UNESP-Dracena), pelas contribuições.

Ao Prof. Dr. Alan Rodrigo Panosso, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos técnicos José Antônio Agustini e Diego Gonçalves Feitosa, pelo auxílio no desenvolvimento do projeto.

Ao produtor de uva Sr. Deucir, por ceder a área e materiais para a realização desse trabalho.

Ao Bibliotecário João Josué Barbosa pela revisão da dissertação.

Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia da UNESP-FEIS: M.Sc. Danilo Augusto Pereira dos Santos e Dr. Edison Chavarro Mesa, por todo companheirismo, apoio e momentos de descontração.

À minha querida Luciana Solera Sales, ofereço um agradecimento mais do que especial, por ter vivenciado comigo passo a passo todos os detalhes deste trabalho, por ter me dado todo o apoio que necessitava nos momentos difíceis, por todo carinho e respeito.

Enfim, a todos que, de alguma maneira, colaboraram para minha formação e realização deste trabalho.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar, em laboratório e câmara de crescimento, o efeito antifúngico de sete óleos essenciais sobre *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira. Foram selecionados os óleos essenciais de canela, eucalipto globulus, manjerona, melaleuca, menta piperita, orégano e tomilho branco, comparando-os com o fungicida mancozebe + metalaxil-M. Em laboratório, foram realizados experimentos avaliando-se o efeito do contato direto e dos compostos voláteis dos óleos essenciais sobre a germinação de esporos de *P. viticola*; e o efeito dos óleos essenciais na germinação de esporos de *P. viticola*, aplicados em folhas de videira, em condições de campo. Todos os óleos essenciais apresentam capacidade de inibir a germinação dos esporos de *P. viticola*, em graus variáveis e, também, com atividade fungistática. Todos os óleos essenciais avaliados possuem instabilidade química, pois, à medida que se aumenta o tempo de incubação ou o intervalo entre a aplicação dos produtos, a percentagem de atividade antifúngica de todos os óleos essenciais diminui. Os óleos essenciais de canela e eucalipto globulus foram os mais antifúngicos sobre *P. viticola*. Em câmara de crescimento foram realizados experimentos para determinar a persistência da atividade antifúngica dos óleos essenciais sobre *P. viticola*; determinar a resistência à chuva dos óleos essenciais e determinar o efeito curativo e/ou preventivo dos óleos essenciais sobre o míldio da videira. Todos os óleos essenciais possuem atividade antifúngica sobre *P. viticola*, nas concentrações a partir de 0,5%, em câmara de crescimento, quando a inoculação de esporos ocorreu de uma e seis horas após a aplicação dos produtos. No entanto, reduções na eficiência dos óleos essenciais foram observadas em plantas inoculadas após 12 e 24 horas da aplicação dos produtos. Como os mais eficientes, destacam-se os óleos essenciais de canela e tomilho branco, que proporcionaram controle maior sobre o míldio em plantas inoculadas 24 horas após a aplicação dos produtos. O tratamento preventivo foi mais eficiente na redução da severidade do míldio. Além do fungicida mancozebe + metalaxil-M, o óleo essencial de canela foi o produto mais eficiente no controle preventivo e curativo do míldio da videira. Todos os óleos essenciais avaliados, semelhante ao fungicida, proporcionaram 100% de controle do míldio na ausência de chuva simulada. No entanto, após 10 mm de chuva, todos os óleos proporcionaram menor controle sobre o míldio da videira. Nestas condições, os óleos de canela e tomilho branco foram os mais eficientes no controle da doença, mas foram inferiores ao controle proporcionado pelo fungicida.

Palavras-chave: Produtos naturais. *Plasmopara viticola*. Efeito fungistático. Persistência. mancozebe + metalaxil-M. Chuva simulada.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate, under laboratory and growth chamber conditions, the fungitoxic effect of seven essential oils on *Plasmopara viticola*, the grapevine downy mildew pathogen. We selected essential oils from cinnamon, *Eucalyptus globulus*, marjoram, melaleuca, piperita mint, oregano and white thyme, in comparison with the fungicide mancozeb + metalaxyl-M. In laboratory, the experiments were performed evaluating the effect of direct contact and volatile compounds of essential oils on the *P. viticola* spores germination; under field conditions, the effect of essential oils was on the *P. viticola* spores germination applied on vine leaves in field conditions. All essential oils had the ability to inhibit spores germination of *P. viticola* in varying degrees, as well as by fungistatic activity. It was noteworthy that all the essential oils have chemical instability, so as the incubation time or the interval between application increases, the antifungal activity of any essential oil decreased. Cinnamon and *Eucalyptus globulus* essential oils were the most fungitoxic for *P. viticola*. Under growth chamber conditions, experiments were conducted to determine the essential oils antifungal persistence activity on *P. viticola*; the resistance to rain and their curative and/or preventive effect on grapevine downy mildew. All essential oils at 0.5% concentrations have antifungal activity against *P. viticola*, when spores inoculation occurred one and six hours after oils application. However, reduction in essential oils efficacy was found on inoculated plants after 12 and 24 hours after the application. The most efficient essential oils were from cinnamon and white thyme, which provided higher mildew control on 24 hours, inoculated plants after products application. The preventive treatment was more effective on reducing downy mildew severity. Besides the fungicide mancozeb + metalaxyl-M fungicide, the cinnamon essential oil was the most efficient in the grapevine downy mildew preventive and curative control. All essential oils, similar to the fungicide, provided 100% mildew control in the absence of simulated rainfall. However, with 10 mm rain, all oils have provided less control of grapevine mildew. Under these conditions, only cinnamon and white thyme oils were effective in control disease, but were lesser than the control provided by the fungicide.

Keywords: Natural products. *Plasmopara viticola*. Fungistatic effect. Persistence. mancozeb + metalaxyl-M. Simulated rainfall.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividades relatadas do óleo essencial de canela sobre micro-organismos.....	20
Tabela 2. Atividades relatadas do óleo essencial de eucalipto globulus sobre micro-organismos.....	21
Tabela 3. Atividades relatadas do óleo essencial de manjerona sobre micro-organismos.	21
Tabela 4. Atividades relatadas do óleo essencial de melaleuca sobre micro-organismos.....	22
Tabela 5. Atividades relatadas do óleo essencial de menta piperita sobre micro-organismos.	23
Tabela 6. Atividades relatadas do óleo essencial de orégano sobre micro-organismos.	23
Tabela 7. Atividades relatadas do óleo essencial de tomilho branco sobre micro-organismos.	24

CAPÍTULO 1.

Tabela 1. Valores de F para percentagem inibição da germinação (PIG) de esporos de <i>Plasmopara viticola</i> por sete óleos essenciais e o fungicida mancozebe + metalaxil-M em quatro períodos de incubação. Os esporos foram distribuídos sobre meio de cultura ágar-água acrescido com o óleo essencial ou fungicida, em placas de Petri. Ilha Solteira/SP, 2013.	41
Tabela 2. Valor médio da percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de <i>Plasmopara viticola</i> , por sete óleos essenciais e um fungicida, após quatro períodos de incubação, quando os esporos foram mantidos em contato direto com o óleo essencial. Ilha Solteira, SP, 2013..	44
Tabela 3. Concentração letal para inibição de 50% (CL ₅₀) da germinação dos esporos de <i>Plasmopara viticola</i> , pelos sete óleos essenciais, quando os esporos foram mantidos em contato direto com o óleo essencial. Ilha Solteira, SP, 2013.....	44
Tabela 4. Valores de F para percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de <i>Plasmopara viticola</i> pelos sete óleos essenciais e um fungicida em dois períodos de incubação. Os esporos foram distribuídos sobre meio ágar-água contido em placas de Petri. O óleo essencial ou fungicida foi colocado em discos de papel de filtro sob a tampa, com a retirada do disco de papel após 24 horas. Ilha Solteira/SP, 2013.....	45
Tabela 5. Valor médio da percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de <i>Plasmopara viticola</i> , pelos sete óleos essenciais e um fungicida, após dois períodos de incubação, quando os esporos foram mantidos em contato com os compostos voláteis do óleo essencial. Ilha Solteira, SP, 2013.....	47
Tabela 6. Concentração letal dos sete óleos essenciais, para inibição de 50% da germinação dos esporos (CL ₅₀) de <i>Plasmopara viticola</i> , quando os esporos foram mantidos em contato com os compostos voláteis do óleo essencial. Ilha Solteira, SP, 2013.....	47
Tabela 7. Percentagem de inibição da germinação de esporos de <i>Plasmopara viticola</i> e valores de F após a aplicação de sete óleos essenciais, na concentração de 1%, e um fungicida	

em folhas de videira em condições de campo. Avaliação realizada após 24 e 48 horas após a pulverização. Ilha Solteira/SP, 2014.....48

CAPÍTULO 2.

Tabela 1. Valores de F e percentagem de folhas de videira com sintomas de míldio por tratamento. Plantas de videira pulverizadas com os óleos essenciais e inoculadas com a suspensão de esporos de *Plasmopara viticola*, 12 e 24 horas após. A avaliação do míldio foi realizada aos cinco e 20 dias após a inoculação. Ilha Solteira/SP, 2014..... 63

Tabela 2. Valores de F e severidade do míldio da videira sob o efeito preventivo e curativo de sete óleos essenciais, nas concentrações de 0,5 e 1%, e um fungicida aplicados em folhas de videira, antes e após a inoculação de *Plasmopara viticola*. Ilha Solteira/SP.65

Tabela 3. Valores de F e percentagem de folhas de videira com sintomas de míldio por tratamento, sendo as plantas inoculadas com *Plasmopara viticola*, após 10 e 30 mm de chuva simulada. Ilha Solteira/SP, 2015.67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sintomas e sinais do míldio em folhas de videira: (A) mancha óleo na superfície superior da folha, (B) esporulação de *Plasmopara viticola* na superfície inferior da folha e (C) coalescimento de lesões. Ilha Solteira/SP, 2013. 17

CAPÍTULO 1.

Figura 1. Percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola* pelos óleos essenciais de canela (A), eucalipto globulus (B), manjerona (C), melaleuca (D), menta piperita (E), orégano (F) e tomilho branco (G), nas concentrações de 0,1; 0,5; 1; 2 e 4%, após 6, 12, 24 e 48 horas de incubação. (**: significativo a 1% de probabilidade)..... 42

Figura 2. Percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola* pelos óleos essenciais de canela (A), eucalipto globulus (B), manjerona (C), melaleuca (D), menta piperita (E), orégano (F) e tomilho branco (G), nas concentrações de 0,1; 0,5; 1; 2 e 4%, em de quatro períodos de incubação. (**: significativo a 1% de probabilidade).. 43

Figura 3. Efeito dos compostos voláteis dos óleos essenciais de canela (A), eucalipto globulus (B), manjerona (C), melaleuca (D), menta piperita (E), orégano (F) e tomilho branco (G), nas concentrações de 0,1; 0,5; 1; 2 e 4%, na percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola*, após 24 e 48 horas de incubação. (**: significativo a 1% de probabilidade)..... 46

CAPÍTULO 2.

Figura 1. Escala diagramática para avaliação da severidade do míldio e oídio da uva, expressa pela percentagem da área foliar lesionada... 60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 A videira (<i>Vitis</i> spp.)	14
2.2 Míldio da videira	15
2.3 Controle alternativo	18
2.3.1 Óleo essencial de canela (<i>Cinnamomumzeylanicum</i> Blume – Família Lauraceae).....	19
2.3.2 Óleo essencial de eucalipto globulus (<i>Eucalyptus globulus</i> Labill – Família Myrtaceae)..	20
2.3.3 Óleo essencial de manjerona (<i>Origanum majorana</i> L. – Família Lamiaceae).....	21
2.3.4 Óleo essencial de melaleuca (<i>Melaleuca alternifolia</i> – Myrtaceae)	22
2.3.5 Óleo essencial de menta piperita (<i>Mentha piperita</i> L. – Família Labiatae).....	22
2.3.6 Óleo essencial de orégano (<i>Origanum vulgare</i> L. - Família Lamiaceae)	22
2.3.7 Óleo essencial de tomilho branco (<i>Thymus vulgaris</i> L. – Família Lamiaceae)	23
REFERÊNCIAS	24

CAPÍTULO 1. FUNGITOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE PLASMOPARA VITICOLA, AGENTE CAUSAL DO MÍLDIO DA VIDEIRA.....	34
RESUMO.....	34
1 INTRODUÇÃO.....	35
2 MATERIAL E MÉTODOS	36
2.1 Preparo inicial.....	36
2.2 Avaliação do contato direto dos óleos essenciais sobre a germinação de esporos de <i>P. viticola</i>	37
2.3 Avaliação dos compostos voláteis dos óleos essenciais sobre a germinação de esporos de <i>P. viticola</i>.....	38
2.4 Avaliação dos óleos essenciais, na germinação de esporos de <i>P. viticola</i>, aplicados em folhas de videira em condições de campo	39
2.5 Análises dos dados	40
3 RESULTADOS	40
3.1 Efeito do contato direto dos óleos essenciais sobre a germinação de esporos de <i>P. viticola</i>	40
3.2 Efeito dos compostos voláteis dos óleos essenciais sobre a germinação de esporos de <i>P. viticola</i>.....	44

3.3 Efeito dos óleos essenciais, na germinação de esporos de <i>P. viticola</i> aplicados em folhas de videira, em condições de campo	48
4 DISCUSSÃO.....	49
5 CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS	52

CAPÍTULO 2. ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DO MÍLDIO DA VIDEIRA EM CÂMARA DE CRESCIMENTO.....	56
RESUMO.....	56
1 INTRODUÇÃO.....	57
2 MATERIAL E MÉTODOS	58
2.1 Preparo inicial.....	58
2.2 Avaliação da persistência da atividade dos óleos essenciais sobre o míldio da videira em câmara de crescimento.....	60
2.3 Avaliação do efeito curativo e/ou preventivo dos óleos essenciais sobre o míldio da videira em câmara de crescimento.....	61
2.4 Avaliação da resistência dos óleos essenciais à chuva em câmara de crescimento....	61
3 RESULTADOS	62
3.1 Efeito da persistência da atividade dos óleos essenciais sobre o míldio da videira em câmara de crescimento	62
3.2 Efeito curativo e/ou preventivo dos óleos essenciais sobre o míldio da videira em câmara de crescimento	64
3.3 Resistência dos óleos essenciais à chuva em câmara de crescimento.....	67
4 DISCUSSÃO.....	68
5 CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75

1 INTRODUÇÃO GERAL

As principais regiões vitícolas do Brasil são caracterizadas por apresentarem umidade e temperaturas elevadas, aliadas a precipitações frequentes durante o ciclo vegetativo da videira (SÔNEGO et al., 2005), favorecem o desenvolvimento da planta e também o desenvolvimento de doenças, as quais podem acarretar grandes prejuízos, caso não sejam tomadas medidas de controle.

As doenças da parte aérea da videira são geralmente causadas por fungos, estas doenças reduzem a qualidade e produtividade dos frutos, promovendo assim, a elevação dos custos de produção (AMORIM; KUNIYUKI, 2005).

O míldio da videira, causado pelo Oomiceto *Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis) Berl. & de Toni, é uma das principais doenças dessa cultura, caracterizada por atacar todos os órgãos verdes da planta, principalmente as folhas, o que, conseqüentemente, causa a diminuição da taxa fotossintética e da produtividade, ocasionando perdas na qualidade e na produtividade dos frutos, devido aos custos com medidas de controle (SÔNEGO et al., 2006).

Para o controle dessa doença se utilizam basicamente fungicidas sintéticos, com aplicações semanais, o que eleva os custos de produção, assim como os riscos de contaminação ambiental e humana (TESSMANN et. al., 2007). Com o objetivo de mudar esse panorama, produtos alternativos vêm sendo testados no controle de doenças de plantas. Uma opção de manejo que pode ser realizado é a utilização de compostos naturais ou biodegradáveis e não-tóxicos. Dentre essas substâncias, encontram-se os óleos essenciais e extrato de plantas, que tem mostrado potencial para o controle ou prevenção de alguns patógenos (FRANZENER et al., 2007).

Dentro deste contexto, este trabalho tem como objetivos avaliar, em laboratório e em câmara de crescimento, a viabilidade e eficiência de óleos essenciais (canela, eucalipto globulus, manjerona, melaleuca, menta piperita, orégano e tomilho branco) no manejo do míldio da videira, nos seguintes aspectos: avaliar em laboratório se existe efeito fungicida ou fungistático dos óleos essenciais sobre *P. viticola*; determinar em câmara de crescimento a persistência da atividade antifúngica dos óleos essenciais sobre *P. viticola*; determinar em câmara de crescimento a resistência à chuva dos óleos essenciais; determinar em câmara de crescimento o efeito curativo e/ou preventivo dos óleos essenciais sobre o míldio da videira.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A videira (*Vitis* spp.)

A videira pertence ao Grupo Cormófitas, Divisão Spermatophita, Subdivisão Angiospermae, Classe Dicotyledoneae e Ordem Rhamnales (ALVARENGA et al., 1998). A Família Vitaceae é constituída de 1126 espécies, divididas em 19 gêneros, a qual se distribui nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, até algumas áreas temperadas, como o vale do Reno, na Europa (HEYWOOD, 1993; GALET; SMITH, 1998).

O gênero *Vitis* é o mais antigo, de maior importância econômica e o único que possui frutos comestíveis. A importância econômica da uva está relacionada ao fato de ser largamente consumida *in natura* ou empregada como matéria prima para a fabricação de sucos, vinhos, uvas passas, geléias, bem como para uso ornamental (SCHLEIER, 2004).

As videiras rústicas (*Vitis labrusca* L.) apresentam como centro de origem as regiões de clima temperado e úmido dos Estados Unidos da América, sendo também denominadas de videiras americanas. A videira europeia (*Vitis vinifera* L.) é originária da Ásia Central, de regiões que possuem clima típico mediterrâneo, caracterizado pelo verão seco e inverno chuvoso (NERONI, 2009).

O cultivo da *V. labrusca* e a produção do seu vinho são mencionados em hieróglifos egípcios que datam de 2.400 anos a.C. e em várias passagens da Bíblia Sagrada. Há 700 anos a. C., os gregos foram os primeiros a ressaltarem as propriedades medicinais do vinho vermelho, como tônico e adstringente (ALONSO, 1998).

Os portugueses colonizadores introduziram a videira no Brasil no ano de 1532, no Estado de São Paulo. Os cultivares de *V. vinifera* procedentes de Portugal e da Espanha expandiram-se para outras regiões do país (SOUZA, 1996). Assim, o cultivo de uvas americanas, rústicas e adaptadas às condições edafoclimáticas, foi o responsável pelo início da expansão da viticultura brasileira. Esta fase foi responsável pela tecnificação da vitivinicultura nacional, principalmente para o controle de pragas e doenças (SOUZA, 1996).

No Estado de São Paulo, as uvas de mesas são as mais cultivadas, com destaque para a cultivar Niágara Rosada (*V. labrusca*). As principais variedades utilizadas para a produção de uvas finas de mesa (*V. vinifera*) baseiam-se no cultivo das variedades Itália, Rubi e Benitaka e, seguido pelas variedades, Patrícia, Brasil, Redglobe, Centennial Seedless, Redimeire e Rubra (CORRÊA et al., 2008).

De acordo com os dados disponíveis no portal do IBGE, em 2013, a produção de uvas no Brasil foi de 1.439,5 toneladas. As áreas plantadas e colhidas de uvas no Brasil, que em 2012 haviam apresentado uma pequena recuperação, em 2013 sofreram redução de 1,09 e 1,55%, respectivamente, em relação ao ano anterior, chegando a um total 79,1 hectares. Essas áreas estão distribuídas, principalmente, entre os Estados de Rio Grande do Sul, São Paulo, Pernambuco, Paraná, Santa Catarina, Bahia e Minas Gerais (IBGE, 2014).

Em 2013, a produção de uvas destinadas ao processamento (vinho, suco e derivados) foi de 679,79 milhões de quilos de uvas, representando 48,11% da produção nacional. O restante da produção (51,89%) foi destinado ao consumo *in natura*. O Estado de São Paulo contribuiu com 172.868 toneladas, cerca de 12% da produção total, de forma a ser classificado como o terceiro em termos de produção (MELLO, 2014). Neste Estado, os Escritórios de Desenvolvimento Rural de Itapetininga e Jales, são os maiores produtores de uvas finas de mesa, enquanto o EDR de Campinas, produz uva comum. O município de Jales contribui com 15,1% da produção vitícola paulista, sendo assim, a terceira principal região produtora de São Paulo (IEA, 2011).

2.2 Míldio da videira

A cultura da videira pode ser infectada por vários patógenos, variando sua importância com a região geográfica e a resistência varietal. O ambiente pode contribuir para aumentar ou limitar o desenvolvimento das doenças (SÔNEGO et al., 2005).

O míldio, causado por *Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis) Berl. & de Toni, é uma das doenças mais prejudiciais aos vinhedos (SÔNEGO et al., 2005). É um parasita obrigatório, considerado um fungo não verdadeiro, que pertence ao Reino Chromista ou Stramenopila, a Classe dos Oomycetes e a Família Peronosporaceae (TESSMANN; VIDA, 2005). Ao infectar o hospedeiro, o patógeno cresce entre as células, apresentando hifa cenocítica e emitindo haustórios globosos ao interior das células parasitadas.

A reprodução assexuada ocorre através dos estômatos, com a emissão de esporangióforos, que produzem esporângios (ovalados e hialinos). Em frutos jovens, os esporangióforos emergem pelas lenticelas. Cada esporângio dá origem a até 10 zoósporos. Os esporângios se destacam com facilidade dos esporangióforos e são disseminados pelo vento, respingos de chuva ou outros agentes mecânicos. Os zoósporos movimentam-se na superfície do hospedeiro em presença de água e encistam próximos aos estômatos, emitindo tubo germinativo e penetrando os hospedeiros (AMORIM; KUNIYUKI, 2005).

A fase sexuada corresponde aos oósporos formados dentro dos tecidos do hospedeiro, principalmente nas folhas. O patógeno possui ciclo de vida dimórfico, sendo os esporos sexuais (oósporos) formados nas folhas infectadas na safra anterior e depositadas sobre o solo dos vinhedos (GALBIATI; LONGHIN, 1984). Com o início das chuvas, os oósporos germinam, ocorrendo à formação de esporângios com zoósporos no seu interior, responsáveis pelas primeiras infecções a partir dos estômatos (KORTEKAMP, 2003). Os oósporos são facilmente disseminados pelo vento ou respingos de chuva, assim como por agentes mecânicos (KISHINO; CARAMORI, 2007).

A principal forma de sobrevivência do fungo dos países temperados é por meio dos oósporos, embora no Brasil, a sobrevivência possa acontecer por micélio no interior de tecidos vivos (AMORIM; KUNIYUKI, 2005).

Originário da América do Norte, o agente causal do míldio provocou enormes prejuízos na espécie *V. vinifera*, sendo a doença mais destrutiva da videira no continente (AMORIM; KUNIYUKI, 2005). No Brasil, sua introdução ocorreu em conjunto com a introdução das videiras americanas no Estado de São Paulo (GARRIDO; SÔNEGO, 2002).

Os maiores danos em consequência do patógeno estão relacionados à perda total ou parcial das inflorescências e/ou frutos e à queda prematura das folhas. A desfolha precoce causará prejuízos na produção do ano e a produção dos anos seguintes. Portanto, o patógeno causará danos na qualidade e na quantidade da produção do ano e o enfraquecimento da planta para as safras futuras (SÔNEGO et al., 2005).

Os sintomas do míldio podem ser observados nas partes aéreas em desenvolvimento desde a primavera até o outono (GALLOTTI et al., 2004). Nas folhas, eles iniciam-se por um encharcamento do mesófilo, formando o sintoma conhecido por “mancha de óleo”, uma mancha pálida, pequena, de bordos indefinidos, mas facilmente visível por transparência contra a luz (Figura 1A).

Em condições de alta umidade, na face inferior da folha, sob a mancha de óleo, observa-se uma eflorescência branca, densa, de aspecto cotonoso, constituída pelas frutificações do fungo. Este sintoma é conhecido por “mancha branca” ou “mancha mofo” (Figura 1B). Com o passar do tempo, a área infectada necrosa e as manchas tornam-se avermelhadas. As lesões necróticas são irregulares e podem coalescer, ocupando grande área do limbo foliar (Figura 1C). As folhas severamente infectadas geralmente caem (AMORIM; KUNIYUKI, 2005).

Figura 1. Sintomas e sinais do míldio em folhas de videira: (A) mancha óleo na superfície superior da folha, (B) esporulação de *Plasmopara viticola* na superfície inferior da folha e (C) coalescimento de lesões. Ilha Solteira/SP, 2013.



Fonte: Do próprio autor.

A doença ataca os cachos em todas as fases de seu desenvolvimento, desde a floração até o início da maturação. Quando o fungo atinge as flores ou os frutos no estágio de chumbinho, o cacho pode ficar recoberto por uma massa branca, constituída de estruturas do fungo, e secar. Quando bagas pequenas são infectadas, elas paralisam o crescimento, tornam-se verde-azuladas, endurecem, secam e tornam-se escuras. Em bagas com mais da metade do desenvolvimento, a infecção ocorre via pedúnculo e o fungo cresce internamente; a uva fica manchada e deprimida, caindo com facilidade (AMORIM; KUNIYUKI, 2005).

Temperaturas entre 20 e 25 °C e umidade relativa de 95%, bem como chuvas abundantes, são consideradas condições propícias ao desenvolvimento do míldio, sendo comum a ocorrência de epidemias quando não são adotadas práticas de controle (GALLOTTI et al., 2004), podendo destruir de 50 a 75% da colheita. Em ambiente favorável o fungo pode completar seu ciclo em apenas quatro dias (AMORIM; KUNIYUKI, 2005).

Para o controle do míldio são recomendados o uso de alguns cultivares resistentes e medidas a serem adotadas no período de repouso da planta com o objetivo de reduzir o inóculo inicial e de medidas aplicadas no decorrer do ciclo vegetativo, para evitar o desenvolvimento de epidemias (AMORIM; KUNIYUKI, 2005). Porém, o método mais utilizado e eficiente de controle utilizado pelos produtores continua sendo a aplicação preventiva de fungicidas de contato e sistêmicos (BLAISE et al., 1990; GISI, 2002; SÔNEGO et al., 2005).

O termo fungicida é originário da palavra em latim “fungi” ou fungos, e “caedo”, matar, o que significa matar os fungos. A atividade fungicida está relacionada à presença de substâncias capazes de matar ou inibir o fungo. Quando apenas inibem temporariamente a

germinação dos esporos, por esta propriedade, o fungicida é denominado de fungistático (AGRIOS, 2005; ZAMBOLIM; JESUS JR., 2008).

Estão registrados para o controle da doença os seguintes fungicidas: oxicloreto de cobre, hidróxido de cobre, sulfato tribásico de cobre, mancozebe, metiram, propinebe, clorotalonil, captana, ditianona, folpete, tiofanato-metílico, dimetomorfe, fosetil, azoxistrobina, triadimenol, fenamidona, piraclostrobina, cimoxanil + mancozebe, metiram + piraclostrobina, mancozebe + oxicloreto de cobre, cimoxanil + famoxadona, benalaxil + mancozebe, famoxadona + mancozebe, cimoxanil + zoxamida, mancozebe + metalaxil-M, mancozebe + zoxamida, fluopicolide, clorotalonil + cimoxanil + clorotalonil + tiofanato-metílico, ciazofamida e sulfato de cobre (AGROFIT, 2015). O fungicida mais utilizado no controle do míldio ainda é a calda bordalesa e como todos os fungicidas cúpricos, pode causar sintomas de fitotoxicidade em plantas jovens (YRUELA, 2005).

2.3 Controle alternativo

Na maioria das regiões produtoras de uvas, o manejo do míldio necessita da aplicação sucessiva de fungicidas durante o período de crescimento das brotações (MADDEN et al., 2000). Apesar de o controle químico ser uma das alternativas mais eficientes no manejo das doenças na cultura, sabe-se que há uma crescente preocupação quanto aos efeitos ambientais, à saúde dos consumidores e ao desenvolvimento de resistência em função do uso repetido dos compostos sintéticos (TRIPATHI et al., 2008).

O mercado internacional de alimentos valoriza cada vez mais a qualidade e respeito ao meio ambiente. Assim, a preocupação com contaminação ambiental e aos riscos à saúde promovidos pelo uso de agrotóxicos, somado a resistências de patógenos a fungicidas e a retirada de alguns produtos do mercado, têm favorecido a busca pela utilização de produtos alternativos no controle de doenças de plantas, em que os óleos essenciais têm grande potencial (CIA et al., 2007; AQUINO et al., 2014).

Os óleos essenciais, conforme a International Standard Organization (ISO), são produtos obtidos de partes de plantas medicinais, condimentares e aromáticas por meio da destilação por arraste de vapor d'água e constituídos por misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas, geralmente odoríferas (SIMÕES et al., 2001). Seus componentes são complexos e variáveis, e estão em diferentes concentrações, alguns em maiores concentrações, e outros em menores quantidades (DORAN; BROPHY, 1990; SIMÕES; SPLIZER, 2000; SIMÕES et al., 2001). As substâncias são produzidas nos metabólitos

secundários das plantas (SILVA et al., 2010), cuja biossíntese é realizada por rotas metabólicas específicas do organismo. Essas rotas possuem estreita relação com a síntese dos metabólitos primários, pois esta síntese são as responsáveis das moléculas precursoras para as principais rotas de produção dos compostos secundários (CASTRO et al., 2004a).

Os óleos essenciais podem ser fabricados por vários órgãos das plantas como flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutas, raízes, madeira e cascas (BAKKALI et al., 2008). A composição e produção dos óleos essenciais são reguladas por fatores fisiológicos, bioquímicos, metabólicos e genéticos (SANGWAN et al., 2001). Dentre as principais funções de proteção destes óleos nas plantas, destaca-se a ações antibacterianas, antivirais, antifúngicas e inseticidas.

Os principais compostos orgânicos presentes nos óleos essenciais são os monoterpenos e sesquiterpenos (CASTRO et al., 2004b; CASTRO et al., 2010). O modo de ação destes óleos no controle de fitopatógenos tem sido atribuído à ação antifúngica direta (ZANELLA et al., 2015), inibindo o crescimento micelial e à germinação de esporos (CRUZ et al. 2015), na ação de fumigação (OOTANI, 2010) e pela indução de fitoalexinas (MAZARO, 2008).

Óleos essenciais extraídos de plantas podem ser alternativa natural no controle integrado de doenças de fruteiras, mostrando atividade antifúngica a diversos patógenos, como relatado em experimentos *in vitro* (CIMANGA et al., 2002; ROZWALKA, 2003; FREIRE, 2008; PARET et al., 2010; MARTINS et al., 2010a; TYAGI; MALIK, 2011b; ARAUJO NETO et al., 2012; FIALHO, 2012; LIMA et al., 2014; CRUZ et al. 2015). Poucos trabalhos relatam que atividade antifúngica de óleos essenciais verificadas em experimentos de campo ou sobre uma planta (JI et al., 2005; MEDICE et al., 2007; KISHORE et al., 2007; PEREIRA et al., 2011; 2012; FIALHO, 2012; BIGATON et al., 2013). No entanto, para que os óleos essenciais possam ser recomendados aos produtores, outros aspectos devem ser estudados.

2.3.1 Óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume – Família Lauraceae)

É uma das mais antigas especiarias conhecidas, sendo seu uso relatado desde os tempos bíblicos, quando o controle de seu comércio foi um dos motivos das grandes explorações marítimas (KOKETSU et al., 1997; LIMA et al., 2005). A extração do óleo essencial de canela pode ser feita através das cascas e das folhas, porém as composições dos óleos são diferentes. O óleo obtido da casca é utilizado na aromatização de alimentos e o das folhas na cosmética e na aromaterapia (GROSSMAN, 2005). Koketsu et al. (1997)

encontraram no óleo essencial da casca a presença do aldeído cinâmico (55%), seguido do eugenol (12%). Ao analisar as folhas da canela, detectaram eugenol (94%) como composto majoritário e traços de aldeído cinâmico (1%). Vários autores relatam atividade antifúngica do óleo essencial de canela que se encontram relacionados na Tabela 1.

Tabela 1. Atividades relatadas do óleo essencial de canela sobre micro-organismos.

Micro-organismos	Efeitos relatados	Referências
<i>Aspergillus flavus</i>	Inibição no crescimento de <i>A. flavus</i> em sementes de milho tratadas com o óleo essencial a 5%. Houve eficiente atividade na combinação dos óleos	MONTES-BELMONT; CARVAJAL (1998)
<i>Alternaria solani</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> a partir da concentração de 750 $\mu\text{L L}^{-1}$	ABREU (2006)
<i>Cercospora arachidicola</i> , <i>Phaeoisariopsis personata</i> e <i>Puccinia arachidis</i>	Inibição em mais de 90% da germinação de esporos <i>in vitro</i> na concentração de 0,01% vol; <i>in vivo</i> reduziu o apodrecimento radicular em 60%	KISHORE et al. (2007)
<i>Ceratocystis</i> sp.	Inibição de 100% do crescimento micelial <i>in vitro</i> , na concentração de 1000 ppm	ANDRADE et al. (2009)
<i>Rhizoctonia oryzae-sativae</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e em casa de vegetação nas concentrações acima de 37,5%; na concentração 87,5 % causou fitotoxicidade	CHAIJUCKAM; DAVIS (2010)
<i>Puccinia allii</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> na concentração de 0,3%	PEREIRA (2012)
<i>Plasmopara viticola</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> nas concentrações acima de 0,1%	FIALHO (2012)
<i>Oidiopsis taurica</i>	Reduziu a severidade do oídio do pimentão em 68% <i>in vivo</i> na concentração de 1 ml L^{-1}	RIBEIRO et al. (2013)

Fonte: Do próprio autor

2.3.2 Óleo essencial de eucalipto globulus (*Eucalyptus globulus* Labill – Família Myrtaceae)

As plantações de eucaliptos no Brasil são geralmente utilizadas para a produção de papel e carvão, porém têm aumentado o uso dessas espécies para madeira, construção civil e extração de essências (SILVA et al., 2006). Vários autores têm encontrado efeitos positivos do óleo de eucalipto em pesquisas científicas que buscam reconhecer sua atividade antifúngica (BONALDO et al., 2004; MEDICE, 2007; CASTRO; LIMA, 2010) as quais estão apresentadas na Tabela 2. Essa atividade tem sido atribuída, principalmente, à presença de eucaliptol e cineol, encontrados no óleo essencial (AGARWAL et al., 2008; SARTORELLI et al., 2007). De acordo com a medicina popular o óleo de eucalipto tem relativa ação anti-séptica, desinfetante e expectorante. (SILVA et al., 2003).

Tabela 2. Atividades relatadas do óleo essencial de eucalipto globulus sobre micro-organismos.

Micro-organismos	Efeitos relatados	Referências
<i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Aspergillus niger</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> na concentração de 0,62%	BANSOD; RAI (2008)
<i>A. flavus</i> e <i>Aspergillus parasiticus</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> por contato e volatilização do óleo essencial, na concentração de 500 µL	VILELA (2007)
<i>Mycosphaerella fijiensis</i>	Inibição da germinação de conídios <i>in vitro</i> nas concentrações acima de 0,3%	HORA (2009)
<i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Phytophthora</i> sp., <i>Colletotrichum sublineolum</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 50%	BONALDO et al. (2004)
<i>Ralstonia solanacearum</i> raça 4	Efeito bacteriostático sobre as células bacterianas <i>in vitro</i> e em experimentos de campo nas concentrações de 0,04; 0,07 e 0,14 % v/v	PARET et al. (2010)
<i>P. allii</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> na concentração de 0,3%	PEREIRA (2012)
<i>P. viticola</i>	Inibição da germinação de esporos no mínimo em 75%, <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> nas concentrações acima de 0,1%	FIALHO (2012)
<i>Fusarium</i> sp.	Atividade antifúngica no tratamento de sementes de soja na concentração de 30%	DARONCO (2013)

Fonte: Do próprio autor

2.3.3 Óleo essencial de manjerona (*Origanum majorana* L. – Família Lamiaceae)

Esta planta é considerada um excelente tônico estomacal, carminativa, antiespasmódica, emenagoga e sudorífica e, em pequenas doses, sedante (QUER, 1988). As propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes do óleo essencial de manjerona foram relatadas por vários autores e estão relacionados na Tabela 3. Os produtos derivados da manjerona são utilizados pela indústria para aromatizar bebidas, condimentos, carnes, sopas em pó, sorvetes, balas, assados, entre outros (VON HERTWIG, 1986). Seus compostos majoritários são g-terpineno e terpineol-4 (KOKKINI, 1993).

Tabela 3. Atividades relatadas do óleo essencial de manjerona sobre micro-organismos.

Micro-organismos	Efeitos relatados	Referências
<i>Myrothecium verrucaia</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> na concentração de 20 µL	DINIZ et al. (2003)
<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas fluorescense</i> e <i>Bacillus cereus</i>	Inibição no crescimento bacteriano em concentrações acima de 0,15%	VÁGI et al. (2005)
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Beneckea natriegens</i> , <i>A. niger</i> , <i>Erwinia carotovora</i> , <i>Moraxella</i> sp.	Atividade antifúngica e antibacteriana <i>in vitro</i> em concentrações acima de 10%	DEANS; SVOBODA (2006)
<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i>	Efeito inibitório em bactérias e fungos <i>in vitro</i> nas concentrações acima de 0,1%	FREIRE (2008)
<i>P. viticola</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> nas concentrações acima de 0,1%	FIALHO (2012)

Fonte: Do próprio autor

2.3.4 Óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* – Família Myrtaceae)

O óleo essencial de “tea tree” é conhecido como um dos mais importantes anti-sépticos naturais no combate a bactérias e fungos como apresentado na Tabela 4. O óleo essencial possui ação comprovada contra fungos, bactérias e outros patógenos humanos, se destacando na medicina popular, sendo utilizado em muitas formulações tópicas; é obtido por hidrodestilação ou destilação por arraste a vapor (GUSTAFSON et al., 1998; HAMMER et al., 2003; GAROZZO et al., 2009). O óleo essencial de melaleuca é constituído principalmente por hidrocarbonetos terpênicos, como monoterpenos, sesquiterpenos, 1,8-cineol e terpenen-4-ol (GNATTA, 2012).

Tabela 4. Atividades relatadas do óleo essencial de melaleuca sobre micro-organismos

Micro-organismos	Efeitos relatados	Referências
<i>E. coli</i>	Ação bactericida e antifúngica <i>in vitro</i> , na concentração de 0,0625%	GUSTAFSON et al. (1998)
<i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>A. alternata</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> a partir da concentração de 0,2%	MARTINS et al. (2010)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Atividade antifúngica em sementes de algodão na concentração de 12% do óleo essencial	FRASSON et al. (2010)
<i>P. viticola</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> nas concentrações acima de 0,1%	FIALHO (2012)

Fonte: Do próprio autor

2.3.5 Óleo essencial de menta piperita (*Mentha piperita* L. – Família Labiatae)

A menta piperita produz óleo essencial rico em mentona (14-32%) e mentol (30-50%) (CARDOSO et al., 2001). O mentol possui larga aplicação nas indústrias de alimentos, farmacêutica, de higiene, perfumaria, confeitaria e do tabaco (DORNER; COLE, 2002; DOMIJAN et al., 2005). O óleo essencial de menta piperita é considerado não tóxico a humanos (ANSARI et al., 2000). A atividade do óleo essencial de menta piperita sobre os micro-organismos tem sido relatada e encontram-se apresentados na Tabela 5.

2.3.6 Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L. - Família Lamiaceae)

Origanum vulgare é um condimento importante, possui princípios ativos que estimulam as funções gástricas e biliares, tratando a dispepsia, arrotos, enjôos, flatulências e estomatites (LORENZI; MATOS, 2002). São relatadas, também, atividades antibacteriana,

antifúngica e antioxidante (DAOUK et al., 1995), as quais estão apresentadas na Tabela 6. Essas atividades são associadas, principalmente, aos compostos majoritários 4-terpineol (47,95%), carvacrol (9,42%), timol (8,42%) e α -terpineol (7,57%) (CLEFF et al., 2010).

Tabela 5. Atividades relatadas do óleo essencial de menta piperita sobre micro-organismos.

Micro-organismos	Efeitos relatados	Referências
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Inibiu parcialmente o crescimento micelial <i>in vitro</i> , a 10%	ROZWALKA (2003)
<i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus glaucus</i> , <i>Colletotrichum musa</i> , <i>C. gloeosporioides</i> , <i>Fusarium semitectum</i> e <i>F. oxysporum</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> , a 0,1, 0,2 e 03%	FREIRE (2008)
<i>A. solani</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> a partir da concentração 5000 $\mu\text{L L}^{-1}$	ABREU (2006)
<i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>F. oxysporum</i> e <i>Penicillium digitatum</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> nas concentrações acima de 1,13 mg mL^{-1}	TYAGI; MALIK (2011a)
<i>C. gloeosporioides</i> e <i>P. digitatum</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> nas concentrações acima de 2 $\mu\text{L L}^{-1}$	COMBRINCK et al. (2011)
<i>P. viticola</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> nas concentrações acima de 0,1%	FIALHO (2012)

Fonte: Do próprio autor

Tabela 6. Atividades relatadas do óleo essencial de orégano sobre micro-organismos.

Micro-organismos	Efeitos relatados	Referências
<i>Alternaria</i> sp., <i>Bipolaris oryzae</i> , <i>Curvularia</i> sp., <i>Gerlachia oryzae</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>S. sclerotiorum</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> nas concentrações de 1:2, 1:4 e 1:8	ZANANDREA et al. (2004)
<i>Fusarium</i> sp., <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>Aspergillus ochraceus</i>	Inibição do desenvolvimento dos fungos <i>in vitro</i> a partir da concentração de 500 mg mL^{-1}	PEREIRA et al. (2006)
<i>Malassezia pachydermatis</i> , <i>A. flavus</i> e <i>A. fumigatus</i>	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> nas nove concentrações testadas (2,0 a 0,004%)	CLEFF et al. (2010)
<i>Corynespora cassiicola</i> , <i>R. solani</i> , <i>C. gloeosporioides</i> e <i>Fusarium</i> sp.	Inibição completa da germinação de esporos e do crescimento micelial <i>in vitro</i> em concentrações a partir de 500 ppm	ROMERO et al. (2011)
<i>P. viticola</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> nas concentrações acima de 0,1%	FIALHO (2012)
<i>Cladosporium carrionii</i>	Proporcionou halo de inibição de 40,25 mm na concentração de 20 μL /placa de Petri	MENEZES e LIMA (2013)

Fonte: Do próprio autor

2.3.7 Óleo essencial de tomilho branco (*Thymus vulgaris* L. – Família Lamiaceae)

O tomilho é uma planta muito utilizada na medicina popular. O óleo essencial, com um de seus principais constituintes denominados timol (40%) e carvacrol é considerado responsável pelas atividades antisséptica, expectorante, carminativa, antiespasmódica e bactericida (VIEIRA DE MELO et al., 2000; SIMÕES; SPITZER, 2004). Possui ainda

atividades espasmolíticas, antifúngicas e inseticidas (JAKIEMIU et al., 2010). Atividades do óleo essencial de tomilho sobre micro-organismos estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7. Atividades relatadas do óleo essencial de tomilho branco sobre micro-organismos.

Micro-organismos	Efeitos relatados	Referências
<i>A. niger</i> ; <i>Eurotium repens</i> , <i>Penicillium</i> sp. e <i>Rhizopus</i> sp.	Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> em concentrações acima de 1500 mg ml ⁻¹	SOUZA et al. (2004)
<i>R. solanacearum</i>	Efeito bactericida em casa de vegetação na concentração de 0,7%. Concentrações acima de 3% provocaram fitotoxicidade em tomateiro	JI et al. (2005)
<i>Phakopsora pachyrhizi</i>	Efeito antifúngico <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> na concentração de 1%. Em campo a concentração foi reduzida para 0,3% devido a sintomas de fitotoxicidade nas plantas de soja	MEDICE et al. (2007)
<i>Cercospora coffeicola</i>	Efeito antifúngico <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> proporcionalmente ao aumento da concentração do óleo essencial	PEREIRA et al. (2008)
<i>P. allii</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> na concentração de 0,3 e 1%. Na concentração de 1% foram observados sintomas de fitotoxicidade em plantas de nirá	PEREIRA (2012)
<i>P. viticola</i>	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> nas concentrações acima de 0,1%	FIALHO (2012)
<i>Salmonella entérica</i>	Inibição do crescimento bacteriano nas concentrações acima de 4% (v/v)	LAVINIKI (2013)

Fonte: Do próprio autor

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. L. M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006. 71 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.
- AGARWAL, V.; LAL, E. P.; PRUTHI, E. V. Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 165, n. 1, p. 13-9, 2008.
- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 27 fev. 2015.
- ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina**: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: Isis, 1998. p. 350-354.
- ALVARENGA, A. A.; ABRAHÃO, E.; REGINA, M. de A.; ANTUNES, L. E. C.; PEREIRA, A. F. Origem e classificação botânica da videira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 194, p. 5-8, 1998.
- ANDRADE, G. Z.; FURTADO, E. L.; FIRMINO, A. C. Efeito de óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *Ceratocystis* sp. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 21., 2009, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP/FCA, 2009. p. 6580-6582.
- AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da videira (*Vitis* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Org.). **Manual de**

Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p.639-651.

ANSARI, M. A.; VASUDEVAN, P.; TANDON, M.; RAZDAN, R. K. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. **Bioresource Technology**, Essex, v. 71, n. 3, p. 267-271, 2000.

AQUINO, C. F. I.; SALES, N. L. P.; SOARES, E. P. S.; MARTINS, E. R.; COSTA, C. A. Composição química e atividade *in vitro* de três óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 2, supl. 1, p. 329-336, 2014.

ARAÚJO NETO, A. C.; ARAÚJO, P. C.; SOUZA, W. C. O. de; MEDEIROS, J. G. F.; AGUIAR, A. V. M. de. Óleo essencial de anis na incidência e controle de patógenos em sementes de erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Revista Verde**, Cataguases, v. 7, n. 1, p. 170-176, 2012.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BANSOD, S.; RAI, M. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. **World Journal of Medical Sciences**, Deira, v. 3, n. 2, p. 81-88, 2008.

BIGATON, D.; BACCHI, L. M. A.; FORMAGIO, A. S. N.; GAVASSONI, W. L.; ZANELLA, C. de S. Avaliação da atividade fungicida de extratos e óleos essenciais sobre ferrugem asiática da soja. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 4, p. 757-763, 2013.

BLAISE, P.; GESSLER, C. Development of a forecast model of grape downy mildew on a microcomputer. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 276, p. 63-70, 1990.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TESSMANN, D. J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 128-134, 2004.

CARDOSO, M. G.; SHAN, A. Y. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; DELÚ FILHO, N.; BERTOLUCCI, S. K. V. **Metabólitos secundários vegetais:** visão geral química e medicinal. Lavras: UFLA, 2001.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais:** metabólitos secundários. 2. ed. Viçosa: UFV, 2004a.

CASTRO, H. G.; OLIVEIRA, L. O.; BARBOSA, L. C. A.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 55-57, 2004b.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 2, p. 308-314, 2010.

CHAIJUCKAM, P.; DAVIS, R. M. Efficacy of natural plant products on the control of aggregate sheath spot of rice. **Plant Disease**, Minneapolis, v. 94, n. 8, p. 986-992, 2010.

CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; BENATO, E. A. Indução de resistência no manejo de doenças pós-colheita. In: RODRIGUES, F. A.; ROMEIRO, R. S. (Org.). **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa: UFV, 2007. p. 245-280.

CIMANGA, K.; APERS, S.; BRUYNE, T.; MIERT, S. V.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J.; KAMBU, K.; TONA, L. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of some aromatic plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 14, p. 382-387, 2002.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R.; FARIA, R. O.; XAVIER, M. O.; SANTIN, R.; NASCENTE, P. S.; RODRIGUES, M. R.; MEIRELES, M. C. A. Atividade inibitória do óleo essencial de orégano em fungos de importância médica e veterinária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1291-1294, 2010.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, Carol Stream, v. 33, n. 2, p. 344-349, 2011.

CORRÊA, L. S.; BOLIANI, A. C.; FRACARO, A. A. (Ed.). **Uvas rústicas: cultivo e processamento em regiões tropicais**. Jales: [s.n.], 2008. 368 p.

CRUZ, T. P.; ALVES, F. R.; MENDONÇA, R. F.; COSTA, A. V.; JESUS JUNIOR, W. C.; PINHEIRO, P. F.; MARINS, A. K. Atividade fungicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* JOWIT (citronela) contra *Fusarium solani*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 1, p. 1-8, 2015.

DAOUK, R. K.; DAGHER, S. M.; SATTOUT, E. J. Antifungal activity of the essential oil of *Origanum syriacum* L. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 58, n. 10, p. 1147-1149, 1995.

DARONCO, M. V. **Óleos essenciais no tratamento de sementes de soja (*Glycine max* L.)**. 2013. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Departamento de Estudos Agrários, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2013.

DEANS, S. G.; SVOBODA, K. P. The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 5, n. 3, p. 187-190, 2006.

DINIZ, S. P. S. S.; UTUMI, H.; BONZANINI, F.; QUEIROZ, M. C. Controle do fungo *Myrothecium verrucaria* por óleos essenciais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 6, n. 1, p. 60-62, 2003.

DOMIJAN, A. M.; PERAICA, M.; ZLENDER, V.; CVJETKOVIĆ, B.; JURJEVIĆ, Z.; TOPOLOVEC-PINTARIĆ, S.; IVIĆ, D. Seed-borne fungi and ochratoxin A contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Republic of Croatia. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 43, n. 3, p. 427-432, 2005.

DORAN, J. C.; BROPHY, J. J. Tropical red gums: a source of 1,8-cineole-rich Eucalyptus oil. **New Forests**, Dordrecht, v. 4, n. 3, p.157-178, 1990.

DORNER, J. W.; COLE, R. J. Effect of application of nontoxigenic strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* on subsequent aflatoxin contamination of peanuts in storage. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 38, n. 10, p. 329-339, 2002.

FIALHO, R. O. **Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre os agentes causais do míldio, oídio e ferrugem da videira (*Vitis* spp.)**. 2012. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2012.

FRASSON, D. B.; ARAUJO, D. V.; MACHADO, E. Z.; MAINARDI, J. T.; MENIN, L. F.; MIRANDA, E. L. Avaliação a campo da transmissibilidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* inoculado em sementes de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, p. S 127, 2010.

FREIRE, J. M. **Óleo essencial de canela, majerona e anis-estrelado: caracterização química e atividade biológica sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus***. 2008. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2008.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A. da S.; STANGARLIN, J. R.; CZEPAK, M. P.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 29-38, 2007.

GALBIATI, C.; LONGHIN, G. Indagini sulla formazione e sulla germinazione delle oospore di *Plasmopara viticola*. **Rivista Italiana di Patologia Vegetale**, Pisa, v. 20, n. 1, p. 66-80, 1984.

GALET, P.; SMITH, J. **Grape varieties and rootstock varieties**. Oenoplurimedia: Chaintré, 1998. 315p.

GALLOTTI, G. J. M.; ANDRADE, E. R. de; SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, A.; GRIGOLETI JR, M. **Doenças da videira e seu controle em Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2004. 90 p. (Boletim técnico, 51).

GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R. Míldio da videira. **Revista Cultivar Hortalças e Frutas**, Pelotas, v. 2, n. 11, p. 22-23, 2002.

GAROZZO, A.; TIMPANARO, B. B.; FURNERI, P. M.; BISIGNARO, G.; CASTRO, A. *In vitro* antiviral activity of *melaleuca alternifolia* essential oil. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 49, n. 6, p. 806-808, 2009.

GISI, U. Chemical control of downy mildews. **Advances in Downy Mildew Research**, Dordrecht, v. 1, n. 10, p. 119-159, 2002.

GNATTA, J. R. **Comparação da eficácia antimicrobiana de sabonetes contendo óleo essencial de Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) e triclosan na higienização de mãos artificialmente contaminadas**. 2012. 146 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

GROSSMAN, L. **Óleos essenciais na culinária, cosmética e saúde**. São Paulo: Optionline, 2005. 301p.

GUSTAFSON, J. E.; LIEW, Y. C.; CHEW, S.; MARKHAM, J. BELL, H. C.; WYLLIE, S. G.; WARMINGTON, J. R. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 26, n. 3, p. 194-198, 1998.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 95, n. 4, p. 853-860, 2003.

HEYWOOD, V. H.; MOORE, D. **Flowering plants of the world**. New York: Oxford University Press, 1993. 336 p.

HORA, B. R. **Ação de óleos essenciais no controle de Sigatoka-Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) de bananeiras (*Musa sp.*)**. 2009. 68 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. **Levantamento Sistemático de Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 27 n. 21, p. 1-85, 2014.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **Banco de dados IEA**. Brasília: Ministério da Integração Nacional, 2010. Disponível em: <<http://www.integracao.gov.br>>. Acesso em: 29 set. 2011.

JAKIEMIU, E. A. R.; SCHEER, A. P.; OLIVEIRA, J. S.; CÔCCO, L. C.; YAMAMOTO, C. I.; DESCHAMPS, C. Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 683-688, 2010.

JL, P.; MOMOL, M. T.; OLSON, S. M.; PRADHANANG, P. M. Evaluation of thymol as biofumigant for control of bacterial wilt of tomato under field conditions. **Plant Disease**, Minneapolis, v. 89, n. 5, p. 497-500, 2005.

KISHINO, A. Y.; CARAMORI, P. H. Fatores Climáticos e o Desenvolvimento da Videira. In: KISHINO, A. Y.; CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO, S. R. (Ed.). **Viticultura tropical: o sistema de produção no Paraná**. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), 2007. p. 59-86.

KISHORE, G. K.; PANDE, S.; HARISH, S. Evaluation of essential oils and their components for broad-spectrum antifungal activity and control of late leaf spot and crown rot diseases in peanut. **Plant Disease**, Minneapolis, v. 91, n. 4, p. 375-379, 2007.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L.; GODOY, R.; LOPES, L. O.; DAISE, L.; MORSEBACH, N. Óleos essenciais de cascas e folhas de canela (*Cinnamomum verum* Presl) cultivada no Paraná. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 281-285, 1997.

KOKKINI, S. Herbs of the Labiatae – Marjoram. In: MACRAE, R.; ROBINSON, R. K.; SADLER, M. J. (Org.). **Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition**. Academic Press: London, 1993.

KORTEKAMP, A. Leaf surface topography does not mediate tactic response of *Plasmopara* zoospores to stomata. **Journal of Applied Botany**, Berlin, v. 77 n. 1/2, p. 41-46, 2003.

LAVINIKI, V. **Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de canela da china (*Cinnamomum cassia*), orégano (*Origanum vulgare*), pimenta negra (*Piper nigrum*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) branco frente a amostras de *Salmonella enterica* isoladas de aves**. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

LIMA, A.; RIBEIRO, A. S.; BONALDO, S. M. Efeito dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Melaleuca alternifolia* sobre isolados de *Aspergillus* sp. **Scientific Electronic Archives**, Sinop, v. 5, p. 63-67, 2014.

LIMA, M. P.; ZOGHBI, M. G.; ANDRADE, E. H.; SILVA, T. M.; FERNANDES, C. S. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae) **Acta Amazônica**, Manaus, v. 35, n. 3 p. 363-366, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 511 p.

MADDEN, L. V.; ELLIS, M. A.; LALANCETTE, N.; HUGHES, G.; WILSON, L. L. Evaluation of disease warning system for downy mildew of grapes. **Plant Disease**, Minneapolis, v. 84, n. 25, p. 549-554, 2000.

MARTINS, E. S. C. S.; FARIAS, A. A. F.; 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 & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 9-13, 2010a.

MARTINS, J. A. S.; SAGATA, E.; SANTOS, V. A.; JULIATTI, F. C. Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 49-51, 2010b.

MAZARO, S. M.; CITADIN, I.; GOUVÊA, A.; LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S. S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 1824-1829, 2008.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; JUNIOR, R. G. M.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MELLO, L. M. R. **Vitivinicultura brasileira: panorama 2013**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e vinho, 2014. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/992334/1/ComunicadoTecnico156.pdf>>. Acesso em: 10 de fev 2015.

MENEZES, C. P. de; LIMA, E. O. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre cepas de *Cladosporium carrionii*. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v.94, n. 1, p. 49-53, 2013.

MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 61, n. 5, p. 616-619, 1998.

NERONI, R. de C. **Amarelos da videira: identificação e análise filogenética dos fitoplasmas, transmissão dos agentes causais e otimização da diagnose**. 2009. 96 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

OOTANI, M. A. **Atividade inseticida, antifúngica e herbitóxica dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus***. 2010. 122 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Câmpus Universitário de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2010.

PEREIRA, A. S.; SARMENTO-BRUM, R. B. C.; GONÇALVES, A. H.; CARDON, C. H.; GUIMARÃES, L. G. L.; SANTOS, G. R. Fitotoxicidade de óleos essenciais em plantas de melancia, feijão e arroz. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, (Suplemento), 2012. Disponível em: <<http://webftp.cpa.embrapa.br/site/Trabalhos/425.pdf>>. Acesso em: 27 jun. 2015.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S.; SILVA, R. F.; FERNANDES, A. F.; FONSECA, E. V. N.; PICCOLI, R. H. F. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006.

PEREIRA, R. B.; ALVES, E.; JÚNIOR, P. M. R.; RESENDE, M. L. V.; LUCAS, G. C.; FERREIRA, J. B. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1287-1296, 2008.

PEREIRA, R. B. LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123, 2011.

PEREIRA, R. B. LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Essential oils for rust control on coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 1, p. 16-24, 2012.

PARET, M. L.; CABOS, R.; KRATKY, B. A.; ALVAREZ, A. M. Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. **Plant Disease**, Minneapolis, v. 94, n. 5, p. 521-527, 2010.

QUER, P. F. **Plantas medicinales** – Labiadas – Oregano. 11. ed. Barcelona: Editorial Labor, 1988.

RIBEIRO, M. C. V.; PEREIRA, T. dos S.; PEREIRA, R. B.; VIDAL, M. C.; PINHEIRO, J. B. Óleos essenciais no controle do oídio em pimentão. In: JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA HORTALIÇAS, 3., 2013, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2013. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/975044/1/OLEOSESSENCIAISNOCONTROLEDOOIDIOEMPIMENTAO.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2015.

ROMERO, A. L.; ROMERO, R. B.; SILVA, E. L.; DINIZ, S. P. S. de S.; OLIVEIRA, R. R. de; VIDA, J. B. Composição Química e Atividade do Óleo Essencial de *Origanum vulgare* Sobre Fungos Fitopatogênicos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 95-102, 2011.

ROZWALKA, L. C. **Controle alternativo da antracnose em frutos de goiabeira, em laboratório**. 2003. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 24, n. 1, p. 3-21, 2001.

SARTORELLI, P.; MARQUIORETO, A. D.; AMARAL-BAROLI, A.; LIMA MEL MORENO, P. R. H. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. **Phytotherapy Research**, Malden, v. 21, n. 3, p. 199-299, 2007.

SCHLEIER, R. **Constituintes fitoquímicos de *Vitis vinifera* L. (UVA)**. 2004. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia). Instituto Brasileiro de Estudos Homeopáticos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SILVA, J.; ABEBE, W.; SOUSA, S. M.; DUARTE, V. G.; MACHADO, M. I. L.; MATOS, F. J. A. Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. **Journal of Ethnopharmacology**, Graz, v. 89, n. 2/3, p. 277-283, 2003.

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; FONSECA, M. C. M. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 70-77, 2010.

SILVA, P. H. M. da; BRITO, J. O.; SILVA JÚNIOR, F. G. da. Potential of eleven *Eucalyptus* species for the production of essential oils. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 1, p. 85-89, 2006.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/EDUFSC, 2001.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS/EDUFSC, 2000. p. 394 - 412.

SIMÕES C. M. O.; SPITZER V. Óleos voláteis. In: GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2004. p.467-495.

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R.; GAVA, R. **Ferrugem da videira no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. (Circular técnica, 62).

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. da R.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. **Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. 34 p. (Circular técnica, 56.)

SOUZA, J. S. I. **Uvas para o Brasil**. Piracicaba. FEALQ. 1996. 791 p.

SOUZA, N. S. Ocorrência de ferrugem em videira em Mato Grosso. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 226, 2004.

TESSMANN, D. J.; VIDA, J. B. Principais doenças fúngicas da videira. **Revista Atualidades Agrícolas**, São Bernardo do Campo, v. 1, n. 1, p. 14-19, 2005.

TESSMANN, D. J.; VIDA, J. B.; GENTA, W.; KISHINO, A. Y. Doenças e seu manejo. In: KISHINO, A.; CARVALHO, S. L. C. (Ed.). **Viticultura tropical: O sistema de produção do Paraná**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2007. p. 255-293.

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**, Oxford, v. 24, n. 1, p. 39-46, 2008.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapor phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, Duildford, v. 22, n. 11, p. 1707-1714, 2011a.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapor phase against food spoilage microorganisms. **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 1, p. 228-235, 2011b.

VÁGI, E.; SIMÁNI, B.; SUHAJDA, Á.; HÉTHELVI, É. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbondioxide. **Food Research International**, Toronto, v. 38, n. 1, p.51-57, 2005.

VIEIRA DE MELO, S. A. B.; COSTA, G. M. N; GARAU, R.; CASULA, A.; PITTAU, B. Supercritical CO₂ extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* Linn. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 00-00, 2000.

VILELA, G. R. **Efeito do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre espécies produtoras de aflatoxinas.** 2007. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

VON HERTWIG, I. F. **Plantas aromáticas e medicinais – *Origanum majorana* L.** São Paulo: Icone, 1986.

YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 17, n. 2, p. 145-156, 2005.

ZANANDREA, I.; JULIANO, D. S.; ANDRÉA, B. M.; JULIANE, L.; VERIDIANA, K. B. Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimento micelial em placas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 14, p. 14-16, 2004.

ZANELLA, C. S.; GAVASSONI, W. L.; BACCHI, L. M. A.; FORMAGIO, A. S. N. Atividade de óleos e extratos vegetais sobre germinação carpogênica e crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 82, n. 1, p. 1-8, 2015.

CAPÍTULO 1. FUNGITOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *PLASMOPARA VITICOLA*, AGENTE CAUSAL DO MÍLDIO DA VIDEIRA

RESUMO

A exploração da atividade biológica de compostos derivados do metabolismo secundários das plantas, presentes nos óleos essenciais, pode ser uma alternativa com potencial antifúngico no controle de doenças de plantas. Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito antifúngico de sete óleos essenciais sobre a germinação de esporos de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira. Os óleos essenciais de canela, eucalipto globulus, manjerona, melaleuca, menta piperita, orégano e tomilho branco foram comparados com o fungicida mancozebe + metalaxil-M. Foram realizados três experimentos avaliando o efeito dos óleos essenciais na germinação de esporos de *P. viticola*, ou seja, quando em contato direto ou por meio dos compostos voláteis com os esporos e quando aplicados em folhas de videira, em condições de campo. Todos os óleos essenciais inibiram a germinação dos esporos de *P. viticola*, mas em graus variáveis, além de apresentarem atividade fungistática. Todos os óleos essenciais avaliados possuem instabilidade química, assim, à medida que se aumenta o tempo de incubação ou o intervalo entre a aplicação dos produtos, a percentagem de atividade antifúngica de todos os óleos diminui. Destacam-se os óleos essenciais de canela e eucalipto globulus como os mais antifúngicos sobre *P. viticola*.

Palavras-chave: Atividade fungicida. Atividade fungistática. Controle alternativo. Germinação de esporos

ABSTRACT

FUNGITOXICITY OF ESSENTIAL OILS ON *PLASMOPARA VITICOLA*, THE CAUSAL AGENT OF GRAPEVINE DOWNY MILDEW

The biological activity exploitation of compounds derived from the secondary plant metabolism, present in essential oils, may be an alternative potential antifungal in the plant diseases control. This study aimed to evaluate, the fungitoxic effect of seven essential oils on *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew. The cinnamon, eucalyptus globulus, marjoram, melaleuca, mint piperita, oregano and white thyme essential oils were performance to compare with the fungicide mancozeb + metalaxyl-M. Three experiments were performed to evaluate the essential oils effect on the *P. viticola* spores germination, i. e., when in direct contact or through the volatile compounds and when the spores were applied to grapevine leaves in field conditions. All essential oils inhibited the *P.viticola* spores

germination, but in varying degrees, in addition, having fungistatic activity. All the evaluated essential oils showed chemical instability, so when increases the incubation time or the interval between products application, all the oil decreases antifungal activity percentage. Noteworthy, the cinnamon and eucalyptus globulus essential oils were the most fungitoxic on *P. viticola*.

Keywords: Fungicidal activity. Fungistatic activity. Alternative control. Spore germination.

1 INTRODUÇÃO

A videira (*Vitis* spp.) é economicamente uma das mais importantes frutíferas cultivadas no mundo, pelas diversas utilizações dos seus frutos para consumo (POMMER; MAIA, 2003). Está presente em mais de 90 países e no Brasil ocupa o décimo segundo lugar entre as frutíferas mais importantes (FAO, 2012). A produção de uvas no Brasil, em 2013, foi de 1.439,5 toneladas, em uma área colhida de 79,1 hectares (IBGE, 2014).

A produção da videira pode sofrer interferência de diversos fatores, dentre eles, as doenças. Uma das mais importantes para a cultura é o míldio, causado pelo Oomyceto *Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis) Berl. & de Toni. Devido a sua característica biotrófica, ele pode infectar todos os tecidos verdes, reduzindo a área fotossintética e bloqueando a translocação de assimilados desde a sua fonte de produção até as áreas de crescimento e frutos, causando a morte da planta (AZIZ et al., 2006). Sob condições climáticas favoráveis e quando medidas de controle não são aplicadas, o míldio pode acarretar em uma redução de até 70% na produção de frutos (GARRIDO; ANGELOTTI, 2011).

O controle do míldio é realizado de maneira similar em todas as regiões produtoras, com aplicações semanais de fungicidas, aumentando os custos de produção, os riscos de intoxicação dos trabalhadores e de contaminação do ambiente (NAVES et al., 2006). Apesar de o controle químico contribuir, há vários anos, para a viabilidade econômica e eficiência no controle das doenças na cultura, existe uma crescente preocupação quanto aos efeitos ambientais, na saúde dos consumidores e, mesmo, no desenvolvimento de resistência em função do uso repetido dos compostos sintéticos (TRIPATHI et al., 2008; FERREIRA, 2012).

O conhecimento dos efeitos indesejáveis do uso de fungicidas convencionais, associados às preocupações dos Órgãos Legisladores e dos consumidores, tem estimulado a busca de novas alternativas para o controle de doenças de plantas. A utilização de compostos derivados do metabolismo secundários das plantas, presentes nos óleos essenciais. Com

potencial antifúngico, podem ser uma opção viável para a conservação de alimentos (MAIA et al., 2014) e no manejo de doenças de plantas (CHAGAS et al., 2014).

Na literatura mundial, constata-se um crescimento significativo no número de trabalhos que buscam encontrar atividade antifúngica de óleos essenciais sobre patógenos de plantas (KISHORE et al., 2007; MAQBOOL et al., 2010; PERINA et al., 2014). Diversos autores trabalhando com controle alternativo de doenças de plantas encontraram resultados promissores para os óleos essenciais de canela (RIBEIRO et al., 2013), eucalipto globulus (DARONCO, 2013), manjerona (FIALHO, 2012), melaleuca (FRASSON et al., 2010), menta piperita (CHAGAS et al., 2014), orégano (MALLET et al., 2014) e tomilho branco (PERINA et al., 2014), mostrando a atividade antifúngica destes óleos essenciais sobre diversos patógenos de plantas. Visando contribuir para mais uma opção para o controle do míldio da videira, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antifúngico de óleos essenciais sobre a germinação de esporos de *P. viticola*, agente causal do míldio da videira.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo inicial

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Doenças de Plantas da Faculdade de Engenharia, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Campus de Ilha Solteira e em vinhedo particular localizada no Cinturão Verde, município de Ilha Solteira-SP.

Os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), eucalipto globulus (*Eucalyptus globulus* Labill), manjerona (*Origanum majorana* L.), melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel), menta piperita (*Mentha piperita* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.), obtidos das folhas e o de tomilho branco (*Thymus vulgaris* L.), obtido das flores e folhas, foram selecionados com base em resultados de experimentos anteriores (FIALHO, 2012) e adquiridos da Empresa Ferquima Ind. e Com. Ltda. (Vargem Grande Paulista-SP).

Como controle químico para comparação com os óleos essenciais, seguindo recomendação do AGROFIT (2015), foi utilizado o fungicida específico para o controle do míldio, o produto comercial Ridomil Gold MZ, constituído da mistura de mancozebe + metalaxil-M, correspondendo, respectivamente, a 640 + 40 g i.a. kg⁻¹ do p.c. e recomendado na dose de 2,5 g do p.c. L⁻¹ de água, o que corresponde, respectivamente, a 1,6 + 0,1 dos i.a. L⁻¹. Para que houvesse mistura perfeita dos óleos essenciais ou fungicida mais água, eles foram misturados com o detergente Tween 80 a 0,5%.

Para o preparo das suspensões de esporos de *P. viticola* utilizadas nos três experimentos conduzidos, foram coletadas folhas de videiras com sintomas de míldio no campo, as quais foram acondicionadas em saco plástico e mantidas em caixa de isopor até o seu manuseio em laboratório. Com a ajuda de um pincel, os esporos foram transferidos para um béquer contendo 10 mL de água deionizada esterilizada. As suspensões de esporos foram filtradas em gaze dupla e sua concentração ajustada para 2×10^4 esporos mL⁻¹.

Quando necessário, a interrupção da germinação dos esporos foi realizada pela deposição de uma gota de lactoglicerol sobre a suspensão de esporos, em cada placa de Petri. Para a avaliação da germinação dos esporos, sob microscópio ótico, foi considerada a contagem de 100 esporos. Como esporo germinado foi considerado o que apresentava liberação dos zoósporos e aspecto de vazio. Determinada a percentagem de germinação de esporos foi possível calcular a percentagem de inibição da germinação de esporos (PIG) de cada tratamento, em relação ao tratamento testemunha.

2.2 Avaliação do contato direto dos óleos essenciais sobre a germinação de esporos de *P. viticola*

Para avaliar o efeito do tempo de contato direto e das concentrações dos óleos essenciais na germinação de esporos de *P. viticola*, foi acrescido o óleo essencial ou fungicida, mais Tween 80 a 0,5%, ao meio de cultura ágar-água (AA) ainda fundente. Os óleos essenciais foram utilizados nas concentrações de 0,1; 0,5; 1; 2 e 4 % e o fungicida, na dose recomendada para aplicação em campo (AGROFIT, 2015). O tratamento testemunha constou apenas de meio de cultura AA mais Tween 80 a 0,5%.

Após a solidificação do meio, sobre ele foi depositado 80 µL da suspensão de esporos. As placas de Petri foram acondicionadas em estufa incubadora, mantida a 25 °C, durante 6, 12, 24 e 48 horas. Ao término de cada período, procedeu-se à interrupção do processo germinativo para as avaliações da germinação de esporos.

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, em arranjo fatorial $7 \times 5 \times 4 + 1$ (óleos essenciais x concentrações x períodos de incubação + fungicida (tratamento adicional)), com cinco repetições, constituídas de uma placa de Petri cada.

2.3 Avaliação dos compostos voláteis dos óleos essenciais sobre a germinação de esporos de *P. viticola*

Para avaliar o efeito dos compostos voláteis dos óleos essenciais sobre a germinação de *P. viticola*, discos de papel de filtro qualitativo, com quatro centímetros de diâmetro, foram embebidos com óleos essenciais ou com fungicida e colocados sob a tampa, na superfície interna da placa de Petri (90 x 15 mm), de acordo com metodologia modificada de Ootani (2010). As concentrações dos óleos essenciais de 0,1; 0,5; 1; 2 e 4% foram expressas como volume de líquido de compostos voláteis em papel de filtro, por volume da placa de Petri, sendo convertidas em 0,0095; 0,475; 0,95; 1,9 e 3,8 mL mL⁻¹ de ar. A concentração do fungicida Ridomil Gold MZ de 2,5 g do p.c. L⁻¹ água foi expressa como grama do produto comercial em papel de filtro, por volume da placa de Petri, sendo convertido em 0,24 g do p.c. mL⁻¹ de ar. Para os tratamentos testemunha o papel de filtro foi umedecido apenas com água deionizada e esterilizada.

Sobre o meio de cultura AA foi depositado 80 µL da suspensão de esporos. As placas de Petri foram fechadas com filme plástico e acondicionadas com a tampa voltada para baixo, em estufa incubadora, mantidas a 25 °C. Para cada tratamento foram utilizadas 10 repetições, sendo cada repetição constituída de uma placa de Petri. Assim, cinco placas foram avaliadas após 24 horas de incubação.

As tampas das cinco placas de Petri restantes de cada tratamento foram trocadas por tampas novas, sem o papel de filtro. Após serem novamente vedadas com filme plástico, foram acondicionadas em estufa incubadora a 25 °C. A segunda avaliação da germinação de esporos foi feita 48 horas após a incubação inicial. A troca das tampas das placas de Petri foi realizada para que fosse possível observar a existência de atividade fungistática dos óleos essenciais sobre a germinação de *P. viticola*, após 24 e 48 horas de incubação.

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 7 x 5 x 2 + 1 (óleos essenciais x concentrações x períodos de incubação + fungicida (tratamento adicional)), com cinco repetições para cada período de incubação. Sendo cada repetição foi constituída de uma placa de Petri.

Com dados foi calculada a percentagem de inibição da germinação (PIG) de esporos após 24 e 48 horas de incubação. A atividade fungistática dos óleos essenciais foi considerada a diferença entre a percentagem de inibição da germinação de esporos os dois períodos de incubação. Se existir atividade fungistática dos óleos essenciais, a PIG de esporos será maior na avaliação após 24 horas e menor após 48 horas de incubação, ou seja, inicialmente os

esporos podem não germinar, mas, germinam posteriormente, sem a presença dos compostos voláteis.

2.4 Avaliação dos óleos essenciais, na germinação de esporos de *P. viticola*, aplicados em folhas de videira em condições de campo

Este experimento foi realizado em uma propriedade particular, em área de videira da variedade Niágara Branca, conduzida em espaldeira, com espaçamento de 1,0 x 2,0 m. Como as plantas de videira da propriedade não foram podadas e não receberam tratamento químico durante todo o ciclo da cultura teve-se a ocorrência natural de míldio. Para cada tratamento foram marcadas quatro brotações de videira, com seis a oito folhas, e que apresentavam, visualmente, esporulação recente de *P. viticola*.

Para a aplicação nas folhas de videira no campo foi utilizada a concentração de 1% dos óleos essenciais (concentração média entre as cinco concentrações utilizadas *in vitro*) e o fungicida foi preparado na dose recomendada para aplicação em campo (AGROFIT, 2015). Para o tratamento testemunha foi aplicado água deionizada. Em todos os tratamentos foi acrescentado 0,5% de Tween 80 e os preparados aplicados com o auxílio de um pulverizador manual, equipado com o bico do tipo cone cheio. Durante a aplicação foi utilizado um saco plástico transparente para envolver o ramo e evitar a deriva dos produtos nos ramos vizinhos. A aplicação foi realizada apenas nas brotações de videira marcadas, sendo esta feita antes das nove horas da manhã, até o ponto de escorrimento.

Após 24 e 48 horas da aplicação foram coletadas duas folhas de cada brotação, de cada repetição, totalizando oito folhas por tratamento. Destas foram preparadas suspensões de esporos para cada tratamento, para que pudesse ser comparada a viabilidade dos esporos de *P. viticola*, após as 24 e 48 horas da aplicação dos produtos. Para tanto, preparado meio de cultura AA e, após a solidificação, sobre ele foi depositado 80 µL de cada suspensão de esporos. Estas placas foram acondicionadas em estufa incubadora e mantidas a 25 °C, durante 12 horas. Após este período, procedeu-se à interrupção do processo germinativo e foram realizadas as avaliações da germinação de esporos.

O delineamento experimental adotado foi do tipo blocos casualizados, em arranjo fatorial 7 x 1 x 2 + 2 (óleos essenciais x concentração x períodos de incubação + testemunha + fungicida (tratamentos adicionais)), com cinco repetições. Cada repetição foi constituída de uma placa de Petri.

2.5 Análises dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. No fator qualitativo (óleos essenciais), as médias foram comparadas pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade, e para os fatores quantitativos (tempo e concentrações) foram ajustadas equações de regressão com base no teste “F” dos coeficientes a 5% de probabilidade e no coeficiente de determinação (R^2). Todas as análises foram feitas com auxílio do programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

Para determinar o óleo essencial mais eficiente no contato direto ou dos compostos voláteis com o patógeno, em cada período de avaliação, foram calculadas as CL_{50} dos óleos essenciais, a partir das equações de regressão ajustadas para cada período ou para a média deles, quando as interações entre as fontes de variação não foram significativas.

3 RESULTADOS

3.1 Efeito do contato direto dos óleos essenciais sobre a germinação de esporos de *P. viticola*

Quando os esporos de *P. viticola* foram mantidos em contato direto com os óleos essenciais, foi constatado, por meio da análise de variância (Tabela 1), que houve efeito significativo ($p < 0,01$) com relação a percentagem de inibição da germinação de esporos de *P. viticola* em função da interação, período de incubação x concentrações dos óleos essenciais, bem como para os fatores isoladamente, para todos os óleos essenciais avaliados. Nos desdobramentos da análise da interação foi constatada interação significativa ($P \leq 0,01$), onde os efeitos da concentração de todos os óleos essenciais sobre a percentagem da inibição da germinação de esporos de *P. viticola* dependem do período de incubação e vice-versa.

Para o desdobramento da interação concentrações dentro do período de incubação foram verificadas duas situações. Para os óleos essenciais de menta piperita, orégano e tomilho branco, nos períodos de 24 e 48 horas de incubação, o melhor ajuste foi obtido com o modelo linear. Para canela, eucalipto globulus, manjerona e melaleuca, em todos os períodos de incubação o melhor ajuste foi no modelo quadrático. Todos os óleos essenciais apresentaram o mesmo comportamento positivo para concentrações. Considerando as cinco concentrações avaliadas, verificou-se que as PIG foram maiores com o aumento da concentração de todos os óleos, independente do período de incubação (Figura 1).

Tabela 1. Valores de F para percentagem inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola* pelos sete óleos essenciais e o fungicida mancozebe + metalxil-M em quatro períodos de incubação. Os esporos foram distribuídos sobre meio de cultura ágar-água, acrescido com o óleo essencial ou fungicida, em placas de Petri. Ilha Solteira/SP, 2013.

Fontes de Variação	Eucalipto			Menta		Tomilho	
	Canela	globulus	Manjerona	Melaleuca	piperita	Orégano	branco
P. I. ¹	332,34**	693,39**	1287,78**	999,72**	528,30**	160,26**	308,08**
Conc. ²	441,11**	1710,59**	903,79**	1185,03**	380,91**	480,17**	1202,36**
P. I. x Conc.	5,95**	26,03**	16,87**	22,79**	14,34**	7,20**	21,43**
Fung. ³ vs Fat. ⁴	144,13**	714,65**	424,88**	551,16**	530,02**	708,40**	1217,47**
CV (%)	4,5	3,5	3,8	4,3	6,6	7,5	6,0

** : Significativo a 1% de probabilidade; ¹Período de incubação; ²Concentração; ³Fungicida; ⁴Fatorial.

Fonte: Do próprio autor

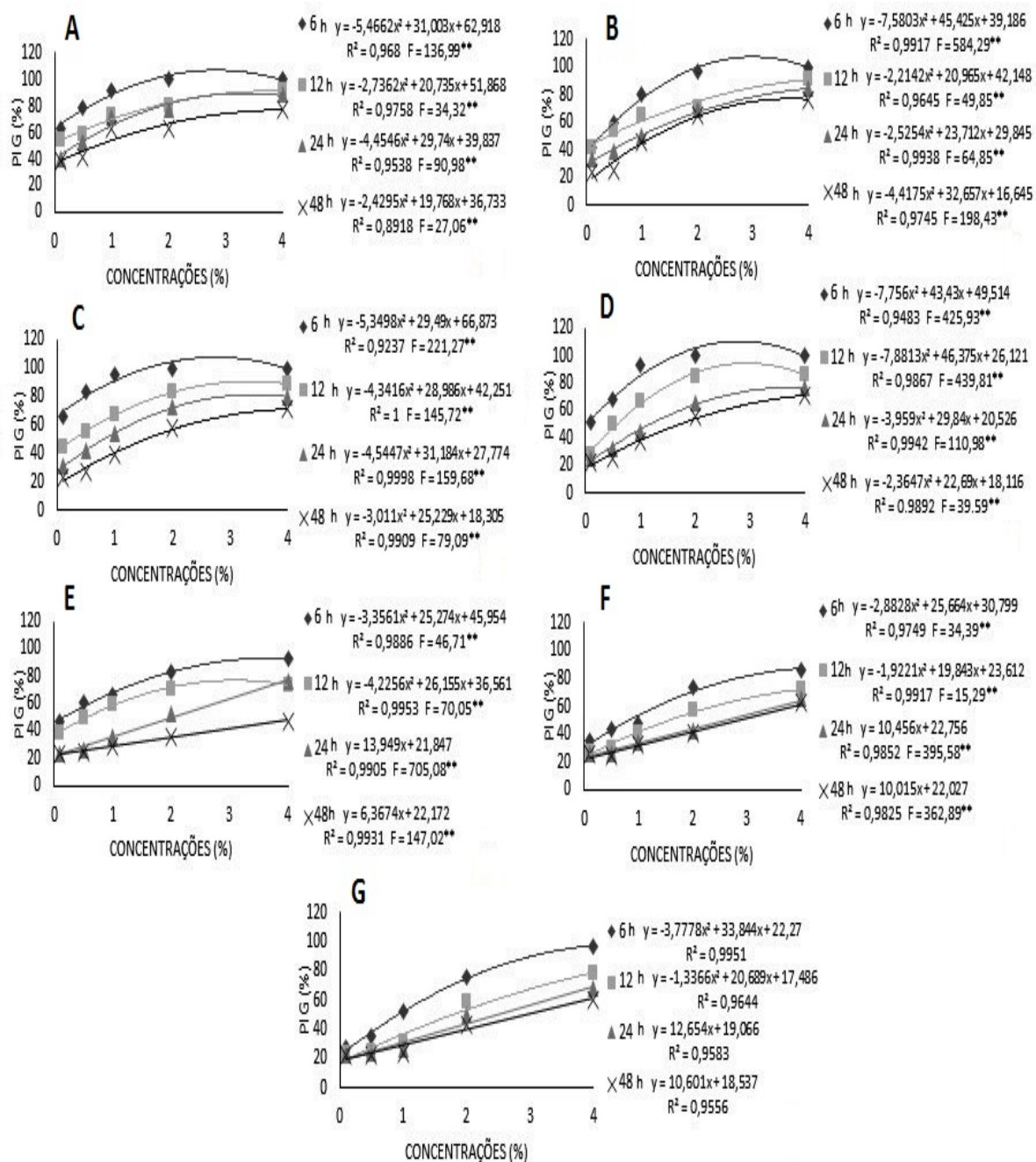
Para o desdobramento da interação períodos de incubação dentro das concentrações, os óleos de canela e menta piperita a 4% e os óleos essenciais de eucalipto globulus, orégano e tomilho branco a 0,1%, tiveram um melhor ajuste no modelo linear. Todos os outros óleos essenciais, em todas as concentrações avaliadas, exibiram o melhor ajuste no modelo quadrático para a equação de regressão (Figura 2), porém, todas apresentaram o mesmo comportamento negativo para período de incubação.

Na concentração de 4% foram verificadas as maiores inibições de germinação para todos os óleos essenciais, com destaque para canela, eucalipto, manjerona e melaleuca, que proporcionaram 100% de inibição da germinação de esporos de *P. viticola*, após 6 horas de incubação (Figura 1). Comparando os quatro períodos de incubação avaliados, para todos os óleos verificou-se que as PIG foram menores com o aumento do período de incubação, independente da concentração utilizada. No período de 6 horas incubação, para todos os óleos foram encontradas as maiores PIG, acima de 85%, na concentração 4% (Figura 2).

A PIG média geral do fungicida mancozebe + metalxil-M foi de 89,43%, significativamente maior do que o PIG médio geral de todos os óleos essenciais avaliados (Tabelas 1 e 2). Para o tratamento químico observou-se que não houve redução da PIG em função do período de incubação. Os valores das concentrações letais do óleo essencial para inibir 50% da germinação de esporos de *P. viticola* (CL₅₀) para um mesmo óleo essencial variou com o período de incubação, sendo obtidos os menores valores de CL₅₀ obtidos com os menores períodos de incubação. Após 6 horas de incubação, o óleo essencial de canela apresentou o menor valor de CL₅₀ (Tabela 3), enquanto o óleo essencial de menta piperita foi o menos eficientes.

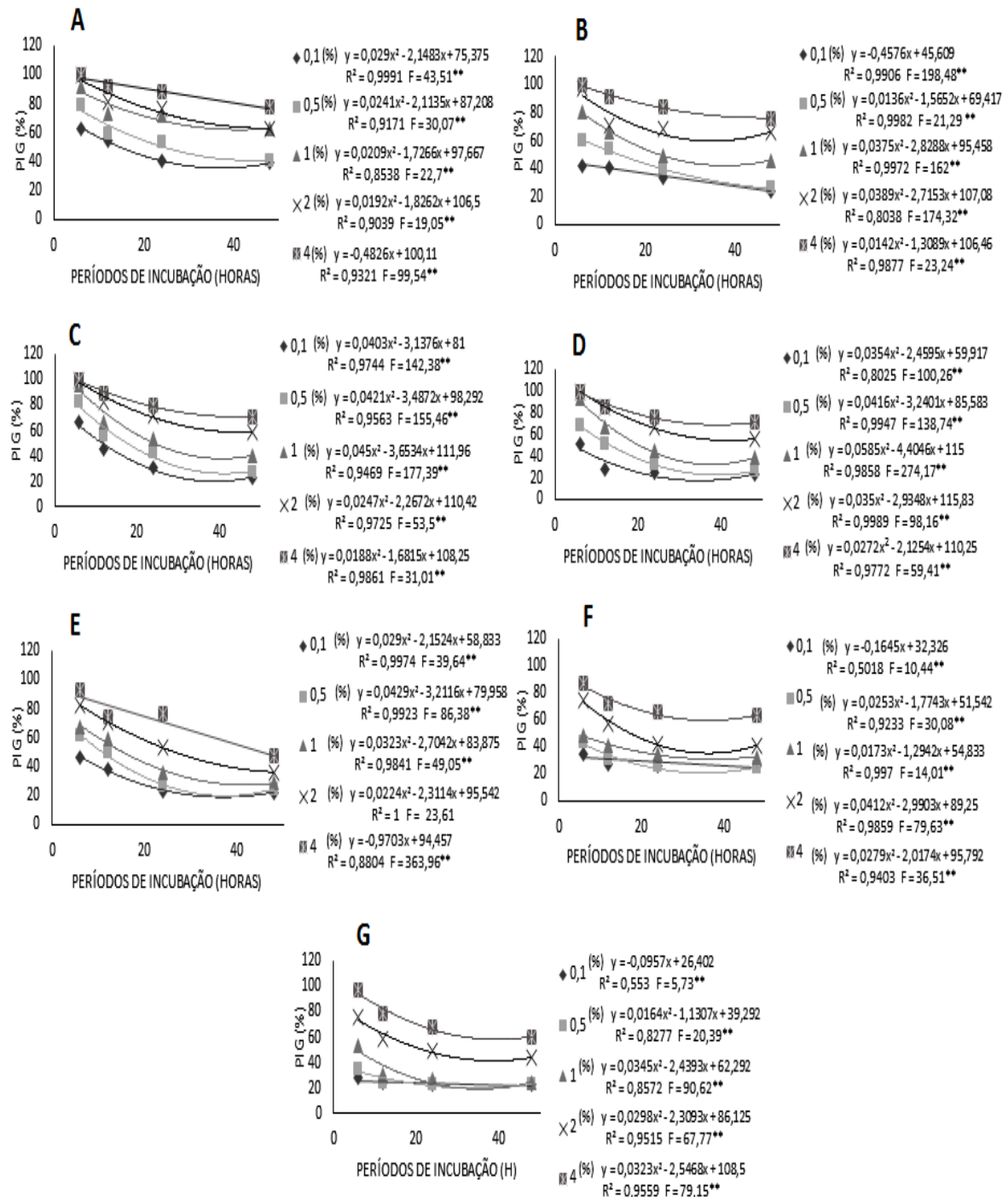
Para os óleos essenciais de canela e eucalipto globulus, as fontes de variação período de incubação e concentrações foram significativas a 5 e a 1 %, respectivamente. Para esses óleos a interação entre as fontes de variação não foi significativa (Tabela 4).

Figura 1. Percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola* pelos óleos essenciais de canela (A), eucalipto globulus (B), manjerona (C), melaleuca (D), menta piperita (E), orégano (F) e tomilho branco (G), nas concentrações de 0,1; 0,5; 1; 2 e 4%, após 6, 12, 24 e 48 horas de incubação. (**: significativo a 1% de probabilidade).



Fonte: Do próprio autor

Figura 2. Percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola* pelos óleos essenciais de canela (A), eucalipto globulus (B), manjerona (C), melaleuca (D), menta piperita (E), orégano (F) e tomilho branco (G), nas concentrações de 0,1; 0,5; 1; 2 e 4%, em de quatro períodos de incubação. (**: significativo a 1% de probabilidade).



Fonte: Do próprio autor

Tabela 2. Valor médio da percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola*, por sete óleos essenciais e um fungicida, após quatro períodos de incubação, quando os esporos foram mantidos em contato direto com o óleo essencial. Ilha Solteira, SP, 2013.

Tratamentos	PIG (%)	Tratamentos	PIG (%)
Canela	70	Menta piperita	50
Eucalipto globulus	61	Orégano	45
Manjerona	64	Tomilho branco	43
Melaleuca	59	manconzebe + metalxil-M	89

Fonte: Do próprio autor

Tabela 3. Concentração letal para inibição de 50% (CL₅₀) da germinação dos esporos de *Plasmopara viticola*, pelos sete óleos essenciais, quando os esporos foram mantidos em contato direto com o óleo essencial. Ilha Solteira, SP, 2013.

Óleos essenciais (%)	CL ₅₀ - Períodos de incubação (horas)			
	6	12	24	48
Canela		<0,10**	0,36	0,74
Eucalipto globulus	0,25 ¹	0,39	1,00	1,22
Manjerona	<0,1**	0,28	0,81	1,53
Melaleuca	<0,1**	0,49	1,17	1,80
Menta piperita	0,16	0,50	1,99	4,35
Orégano	1,01	1,57	2,61	2,80
Tomilho branco	0,91	1,77	2,00	2,67

¹Valores estimados a partir da equação de regressão linear ou quadrática, em %; **: significativo a 1%, na menor concentração avaliada (0,1%), foi obtido PIG de inibição maior que 50%.

Fonte: Do próprio autor

3.2 Efeito dos compostos voláteis dos óleos essenciais sobre a germinação de esporos de *P. viticola*

As variações na percentagem de inibição da germinação de esporos de *P. viticola* em função das fontes período de incubação, concentrações e a interação entre eles foram significativas a 1% de probabilidade para os óleos essenciais de manjerona, menta piperita, orégano e tomilho branco. O mesmo foi observado para o óleo de melaleuca, porém a interação entre as fontes de interação não foi significativa (Tabela 4).

Tabela 4. Valores de F para percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola* pelos sete óleos essenciais e um fungicida em dois períodos de incubação. Os esporos foram distribuídos sobre meio ágar-água contido em placas de Petri. O óleo essencial ou fungicida foi colocado em discos de papel de filtro sob a tampa, com a retirada do disco de papel após 24 horas. Ilha Solteira/SP, 2013.

Fontes de	Eucalipto				Menta		Tomilho
variação	Canela	globulus	Manjerona	Melaleuca	piperita	Orégano	branco
P. I. ¹	10,56*	6,64*	34,96**	65,22**	112,01**	99,31**	234,04**
Conc. ²	1029,19**	442,77**	992,29**	783,87**	485,11**	748,44**	848,67**
P. I. x Conc.	2,07 ^{ns}	1,49 ^{ns}	6,21**	1,17 ^{ns}	36,64**	30,21**	19,21**
Fung. ³ vs Fat. ⁴	511,24**	197,20**	761,15**	465,48**	1683,69**	864,90**	1412,35**
CV (%)	5,63	5,82	6,94	5,54	9,29	4,82	5,26

¹Período de incubação; ²Concentração; ³Fungicida; ⁴Fatorial; **: significativo a 1% de probabilidade; *: significativo a 5% de probabilidade; ^{ns}: não significativo a 5% de probabilidade.

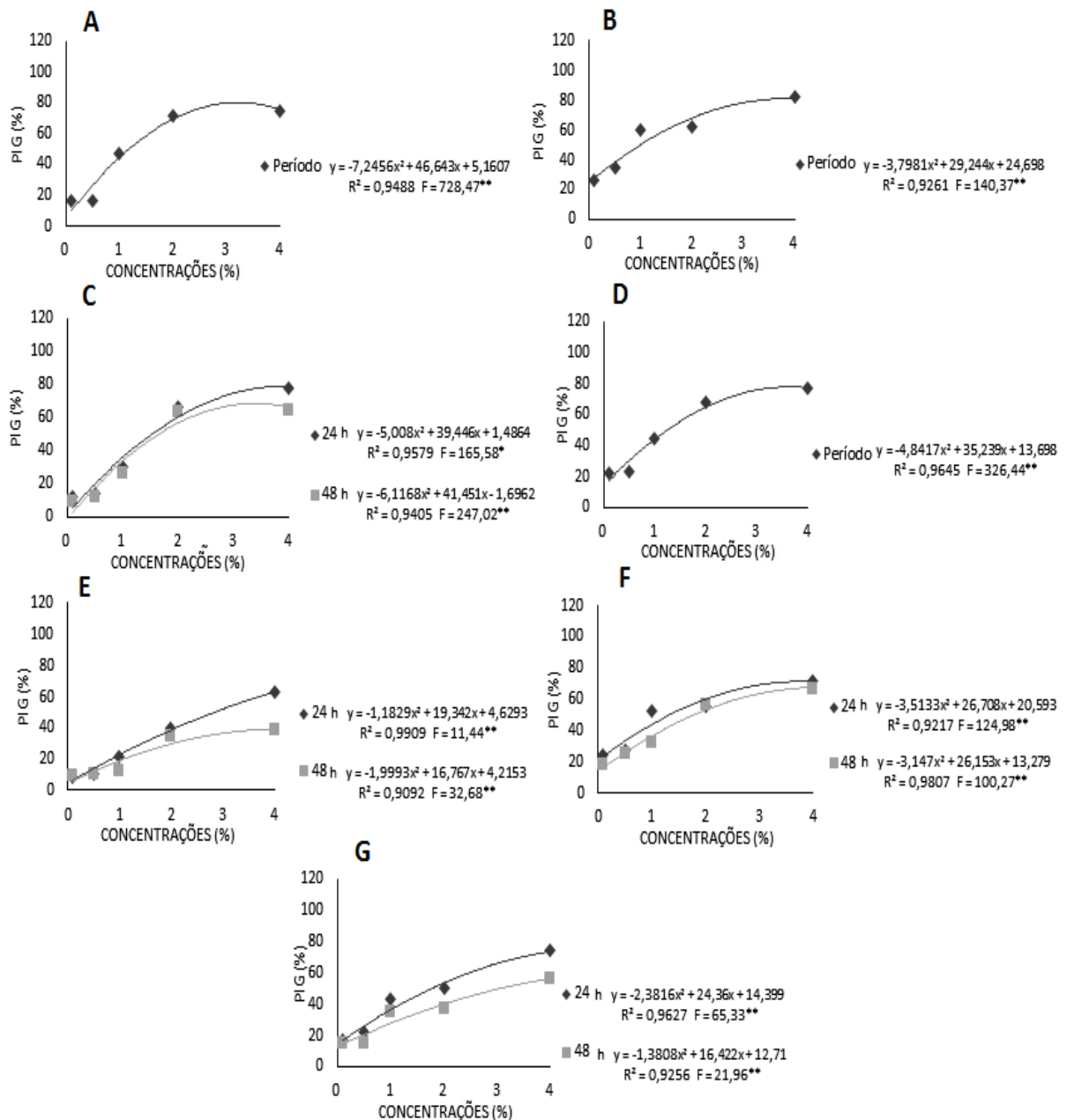
Fonte: Do próprio autor

Para o desdobramento da interação concentrações dentro dos períodos de incubação, para os óleos essenciais de canela (Figura 3A), eucalipto globulus (Figura 3B) e melaleuca (Figura 3C), as curvas de regressão foram determinadas a partir da média dos dois períodos de incubação, enquanto as interações entre as fontes de variação não foram significativas. Para os demais óleos, onde houve interação entre os períodos de incubação e as concentrações, foram determinadas as curvas de regressão para cada período de incubação, evidenciando o comportamento diferenciado das concentrações, dentro de cada período. Todos os óleos essenciais apresentaram ajuste quadrático positivo para as concentrações (Figura 3).

Independente do período de incubação, nas cinco concentrações avaliadas, os valores de PIG foram maiores com o aumento da concentração de todos os óleos essenciais (Figura 3). Após 24 horas de incubação, os óleos de manjerona, menta piperita, orégano e tomilho branco proporcionaram os maiores valores de PIG, enquanto que após 48 horas houve redução nos valores de PIG para todos os óleos essenciais. Para os dois períodos de incubação, para as concentrações de 0,1; 0,5; 1 e 2%, foi observada a baixa eficiência da fase de vapor dos óleos essenciais, não sendo detectadas PIG acima de 75%.

A PIG média geral do fungicida manconzebe + metalxil-M foi de 75,2%, ou seja, significativamente maior do que a PIG médio de todos os óleos essenciais avaliados. Para este tratamento, não se observou redução da PIG com o aumento do período de incubação (Tabelas 4 e 5).

Figura 3. Efeito dos compostos voláteis dos óleos essenciais de canela (A), eucalipto globulus (B), manjerona (C), melaleuca (D), menta piperita (E), orégano (F) e tomilho branco (G), nas concentrações de 0,1; 0,5; 1; 2 e 4%, na percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola*, após 24 e 48 horas de incubação. (**: significativo a 1% de probabilidade).



Fonte: Do próprio autor

Constata-se que, na medida em que os períodos de incubação aumentam, as CL_{50} também aumentam, sendo necessária, assim, uma concentração maior de óleo essencial para inibir 50% da germinação de esporos após 48 horas de incubação. Considerando o contato dos esporos de *P. viticola* com os compostos voláteis dos óleos essenciais, destaca-se o óleo de

eucalipto globulus como o mais eficiente na inibição da germinação de esporos de *P. viticola*, pois apresentou a CL₅₀ abaixo de 1%, enquanto o óleo de menta piperita foi o menos eficiente, não sendo possível determinar a concentração capaz de inibir em 50% a germinação de esporos (Tabela 6).

Tabela 5. Valor médio da percentagem da inibição da germinação (PIG) de esporos de *Plasmopara viticola*, pelos sete óleos essenciais e um fungicida, após dois períodos de incubação, quando os esporos foram mantidos em contato com os compostos voláteis do óleo essencial. Ilha Solteira, SP, 2013.

Tratamentos	PIG (%)	Tratamentos	PIG (%)
Canela	45	Menta piperita	25
Eucalipto globulus	53	Orégano	43
Manjerona	38	Tomilho branco	37
Melaleuca	47	manconzebe + metalxil-M	75

Fonte: Do próprio autor

Tabela 6. Concentração letal dos sete óleos essenciais, para inibição de 50% da germinação dos esporos (CL₅₀) de *Plasmopara viticola*, quando os esporos foram mantidos em contato com os compostos voláteis do óleo essencial. Ilha Solteira, SP, 2013.

Óleos essenciais (%)	CL ₅₀ ¹	
	Períodos de incubação (horas)	
	24	48
Canela		1,17 ²
Eucalipto globulus		0,96 ²
Manjerona	1,5	1,52
Melaleuca		1,21 ²
Menta piperita	2,82	ND ³
Orégano	0,9	1,77
Tomilho branco	2	3,1

¹Valores estimados a partir da equação de regressão quadrática, em %; ²Na menor concentração avaliada, 0,1%, foi obtido PIG de inibição maior que 50%. ³Não houve diferença significativa entre os períodos de 24 e 48 horas de incubação. ³Em nenhuma concentração esse óleo essencial inibiu 50% a germinação de esporos.

Fonte: Do próprio autor

3.3 Efeito dos óleos essenciais, na germinação de esporos de *P. viticola* aplicados em folhas

As variações na percentagem de inibição da germinação de esporos de *P. viticola*, em função das fontes de tratamento, tempo após a aplicação e a interação entre eles, foram significativas a 1% de probabilidade para todos os óleos essenciais. Nas condições de campo, todos os óleos mostraram redução significativa na atividade antifúngica, após 48 horas da aplicação (Tabela 7).

Tabela 7. Percentagem de inibição da germinação de esporos de *Plasmopara viticola* e valores de F após a aplicação de sete óleos essenciais, na concentração de 1%, e um fungicida em folhas de videira em condições de campo. Avaliação realizada após 24 e 48 horas após a pulverização. Ilha Solteira/SP, 2014.

Tratamentos	Inibição da germinação de esporos (%)	
	24 horas após a pulverização	48 horas após a pulverização
Canela	65 aA ¹	57 bA
Eucalipto globulus	57 aB	54 bB
Manjerona	43 aC	35 bC
Melaleuca	15 aD	7 bE
Menta piperita	17 aD	8 bE
Orégano	65 aA	37 bC
Tomilho branco	42 aC	21 bD
manconzebe + metalxil-M	74	62
Valor de F		
Tratamentos	785,86**	
Tempo	519,11**	
Tratamentos x Tempo	39,23**	
Fungicida vs Fatorial	866,16**	
CV (%)	5,26	

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na linha e maiúscula na coluna, pelo teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade.

Fonte: Do próprio autor

Os óleos essenciais mais eficientes foram os óleos essenciais de canela e orégano que proporcionaram PIG de 65%, não diferindo estatisticamente entre si, após 24 horas da aplicação. Neste mesmo período, os óleos essenciais de melaleuca e menta piperita foram

menos eficientes, proporcionando PIG de 15 e 17%, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si, mas diferindo dos demais óleos essenciais (Tabela 7).

Após 48 horas da aplicação dos produtos, os óleos essenciais de canela e eucalipto globulus foram os mais eficientes, proporcionaram PIG de 57 e 54%, respectivamente, e não diferiram estatisticamente entre si. Novamente, os óleos de melaleuca e menta piperita foram os óleos essenciais menos eficientes, exibindo PIG de 7 e 8%, respectivamente, não diferindo entre si, mas diferindo dos demais óleos essenciais. O tratamento com mancozebe + metalaxil-M foi o mais eficiente em campo, mostrando PIG acima de 60% após 24 e 48 horas da aplicação, diferindo significativamente de todos os óleos essenciais avaliados (Tabela 7).

4 DISCUSSÃO

Entre os sete óleos essenciais avaliados, o de canela destaca-se por ser o mais antifúngico sobre *P. viticola*, quando em contato direto com o patógeno (Tabela 3). Não foram encontrados trabalhos na literatura avaliando óleo de canela sobre *P. viticola*, mas sobre outros patógenos, comprovando seu efeito antifúngico. Maqbool et al. (2010), avaliando a inibição da germinação de conídios de *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) von Arx, detectaram significativa inibição do fungo na concentração de 0,4% do óleo de canela. Lucas (2012) verificou 100% da inibição da germinação de esporos de *Alternaria solani* (ELL. & Martin) Jones & Grout, pelo óleo essencial de canela, na concentração de 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$.

Pelo contato gasoso, o óleo essencial de eucalipto globulus foi antifúngico sobre *P. viticola* (Tabela 6). Outros autores confirmam a atividade antifúngica da fase volátil deste óleo, como Ootani (2010), que relatou este efeito sobre *Aspergillus* sp., *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc e *Colletotrichum musae*. Vilela (2007) verificou o efeito dos compostos voláteis do óleo de eucalipto sobre *Aspergillus flavus* Link e *Aspergillus parasiticus* Speare a partir da dose de 500 μL , com mais de 90% de inibição micelial para todos os fungos.

O óleo essencial de eucalipto globulus foi o mais estável nos experimentos utilizando compostos voláteis ou testando a ação dos óleos após a aplicação no campo. Os resultados confirmam encontrados em laboratório. Assim como *in vitro*, os óleos essenciais de canela e eucalipto globulus foram os mais eficientes *in vivo* após 24 e 48 horas de aplicação dos produtos (Tabela 7). Estes dois óleos exibiram elevada toxidez a micro-organismos, como comprovado por outros autores.

Lorenzetti et al. (2011) verificaram o efeito de vários óleos essenciais no controle do mofo cinzento do morangueiro causado pelo fungo *Botrytis cinerea* Pers., concluindo que os

óleos de canela e eucalipto afetaram tanto o crescimento micelial quanto a germinação de esporos. Piatti et al. (2011) relataram que, na concentração de 0,5%, o óleo essencial de eucalipto globulus proporcionou inibição da germinação de esporos de *Penicillium* sp., significativamente maior que o fungicida Azoxystrobin. Silva et al. (2013) observaram 100% na inibição do crescimento micelial e na germinação de esporos de *Cercospora coffeicola* Berk & Cook pelo óleo de eucalipto globulus.

Houve variação nas CL₅₀ dos óleos essenciais quando os esporos foram colocados em contato direto ou em contato com os compostos voláteis dos óleos essenciais. O modo de ação que provoca a inibição de micro-organismos por óleos e seus compostos químicos envolve diferentes mecanismos, dependendo dos componentes majoritários do óleo essencial (LAMBERT et al., 2001; SOUZA et al., 2005). A fungitoxidade dos óleos pode estar relacionada com sua característica hidrofóbica, o que significa que, ao entrar em contato com o patógeno, os componentes do óleo interagem com a mitocôndria e com os lipídeos da membrana plasmática, alterando a sua permeabilidade, causando distúrbios estruturais, o que pode promover a exposição do conteúdo celular, inclusive do núcleo (BAKKALI et al., 2008; COSTA et al., 2011).

Todos os óleos essenciais apresentaram capacidade de interferir na germinação dos esporos de *P. viticola*. Em todos os experimentos realizados, aumentos no tempo de incubação, no intervalo de tempo entre a aplicação dos óleos essenciais e o teste de germinação, e nos intervalos entre as aplicações dos produtos e a inoculação de esporos, resultaram em redução da percentagem de atividade antifúngica de todos os óleos essenciais (Figuras 2, 3 e Tabela 7).

Este fato pode ser explicado devido à ação fungicida e fungistática dos óleos e, também, a degradação do óleo essencial. Inicialmente os óleos essenciais mataram uma parte dos esporos do patógeno, porém a outra parte permaneceu sem germinar em decorrência da ação fungistática. Com maiores períodos de incubação, os óleos podem ter se degradado devido à presença de luz, calor, oxigênio atmosférico e umidade permitindo, assim, há a germinação dos esporos dormentes. Esta atividade fungistática dos óleos essenciais sobre os esporos de *P. viticola*, somente pode ser detectada por terem sido realizadas avaliações da germinação de esporos em vários períodos de tempo. Destaca-se a importância destes experimentos, pouco explorados na literatura, para avaliações de atividades fungistáticas.

Não foram encontrados trabalhos avaliando a atividade fungistática de óleos essenciais sobre *P. viticola*. Silva et al. (2012; 2014), porém, constataram maior atividade antifúngica do extrato aquoso de cinamomo sobre a germinação de *P. viticola* no menor período de

incubação, e que à medida que o período de incubação aumentava a percentagem de inibição de esporos era reduzida. Os autores atribuem essa maior atividade fungistática do extrato à perda das propriedades antifúngicas do produto, após um período maior de incubação.

Leite (2010) também verificou atividade fungistática do extrato de alho e do óleo vegetal no controle do míldio da videira e na germinação de esporângios do agente causal *P. viticola*. A existência da atividade fungistática dos óleos essenciais não é uma característica interessante para um produto a ser usado no controle do míldio.

Os óleos essenciais podem ser fungicidas ou fungistáticos e as reações de sensibilidade dos esporos fúngicos, para os óleos, podem variar mesmo em baixas concentrações. A eficiência desses produtos vai depender do tempo de exposição dos esporos ao princípio ativo do produto (BANIHASHEMI; ABIVARDI, 2011). Após análise por microscopia eletrônica de varredura em amostras tratadas com os óleos essenciais de capim-limão e citronela sobre *A. solani*, Lucas (2012) constatou que os óleos atrasaram o processo de germinação dos conídios, atuando de forma fungistática, e não fungicida, como se acreditava.

De acordo com Simões e Spitzer (2004), os óleos essenciais na presença de oxigênio, luz, calor, umidade e metais são muito instáveis, sofrendo inúmeras reações de degradação, o que dificulta a sua conservação, fazendo com que o processo de armazenamento seja de importância fundamental para a manutenção de sua qualidade.

Todos os óleos essenciais, estudos no presente trabalho, exibiram redução significativa na PIG após 48 de incubação, tanto nos experimentos de laboratório como no experimento em campo (Tabelas 3, 6 e 7). A existência da atividade fungistática dos óleos não é uma característica interessante para que o produto seja usado no controle do míldio. Assim, o óleo essencial exigirá várias aplicações em curtos intervalos de tempo para ser eficiente ou haverá a necessidade da associação de outro produto que dê estabilidade à ação do óleo essencial.

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que os óleos essenciais podem-se constituir em mais uma opção para o controle do míldio da videira, necessitando-se que as características instáveis dos óleos essenciais necessitam ser mais estudadas para, assim, tornar viável sua utilização em condições de campo.

5 CONCLUSÕES

- Em contato direto com o patógeno, o óleo essencial de canela proporcionou maior inibição da germinação dos esporos, após 48 horas de incubação.

- Em contato gasoso, a maior atividade antifúngica foi exibida pelo óleo essencial de eucalipto globulus.
- Os óleos essenciais de canela e de eucalipto globulus foram mais eficientes na inibição da germinação de *P. viticola*, após aplicação em folhas de videira, no campo.
- As avaliações da germinação de esporos de *P. viticola* após vários períodos de incubação possibilitaram observar a atividade fungistática dos óleos essenciais.
- Todos os óleos essenciais mostraram atividade fungistática, verificada pelo aumento da germinação dos esporos de *P. viticola* no decorrer do tempo.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plantpathology**. Burlington: Elsevier Academic, 2005. 922 p.

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 27 fev. 2015.

AZIZ, A.; TROTEL-AZIZ, P.; DHUICQ, L.; JEANDET, P.; COUDERCHET, M.; VERNET, G. Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. **Phytopathology**, Minneapolis, v. 96, n. 11, p. 1188-1194, 2006.

BANIHASHEMI, Z.; ABIVARDI, C. Evaluation of fungicidal and fungistatic activity of plant essential oils towards plant pathogenic and saprophytic fungi. **Phytopathologia Mediterreneae**, Firenze, v. 50, n. 2, p. 245-256, 2011.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

CHAGAS, H. A.; BASSETO, M. A.; ROSA, D. D.; TOPPA, E. V. B.; FURTADO, E. L.; ZANOTTO, M. D. Avaliação de fungicidas, óleos essenciais e agentes biológicos no controle de *Amphobotrys ricini* em mamoneira (*Ricinus communis* L.). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 1, p. 42-48, 2014.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; RESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. e L. M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

DARONCO, M. V. **Óleos essenciais no tratamento de sementes de soja (*Glycine max* L.)**. 2013. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Departamento de Estudos Agrários, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2013.

FAO. **Statistical data**. Roma: FAO, 2012. Disponível em <<http://faostat.fao.org/faostat>>. Acesso em: 07 Abril 2014.

FERREIRA, G. M. **Progresso e controle alternativo de mancha das folhas (*Pseudocercospora vitis*) e míldio (*Plasmopara viticola*) em videiras rústicas na Região Metropolitana de Curitiba**. 2012. 84 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

FIALHO, R. O. **Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre os agentes causais do míldio, oídio e ferrugem da videira (*Vitis* spp.)**. 2012. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2012.

FRASSON, D. B.; ARAUJO, D. V.; MACHADO, E. Z.; MAINARDI, J. T.; MENIN, L. F.; MIRANDA, E. L. Avaliação a campo da transmissibilidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* inoculado em sementes de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, p. S 127, 2010.

GARRIDO, L. R.; ANGELOTTI, F. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças da videira no Brasil. In: GHINI, R. et al. (Ed.). **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2011. p. 331-356.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. **Levantamento sistemático de produção agrícola**. Rio de Janeiro, v. 27 n. 21, p. 1-85, 2014.

KISHORE, G. K.; PANDE, S.; HARISH, S. Evaluation of essential oils and their components for broad-spectrum antifungal activity and control of late leaf spot and crown rot diseases in peanut. **Plant Disease**, Minneapolis, v. 91, n. 4, p. 375-379, 2007.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J.; NYCHAS, G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 91, n. 3, p. 453-462, 2001.

LEITE, C. D. **Extrato de alho e óleo vegetal na quebra de dormência de gemas e no controle de doenças da videira**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, Paraná, 2010.

LORENZETTI, E. R. I.; MONTEIRO, F. P. I.; SOUZA, P. E. I.; SOUZA, R. J. I.; SCALICE, H. K. I.; DIOGO JR, R. I.; PIRES, M. S. O. I. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 13, p. 619-627, 2011.

LUCAS, G. C. **Óleos essenciais no controle da pinta preta do tomateiro**. 2012. 92 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MAIA, J. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FARIA, C. M. D. R.; OLIVEIRA, J. S. B.; JARDINETTI, V. A.; BATISTA, B. N. B. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças e

na indução de resistência. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 5, p. 330-339, 2014.

MALLET, A. C. T.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; MACHADO, S. M. F.; ANDRADE, M. A.; NELSON, D. L.; PICCOLI, R. H.; PEREIRA, C. G. Chemical characterization of the *Allium sativum* and *Origanum vulgare* essential oils and their inhibition effect on the growth of some food pathogens. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 16, n. 4, p. 804-811, 2014.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; ALDERSON, P. G. Effect of cinnamon oil on incidence of anthracnose disease and postharvest quality of bananas during storage. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v. 12, n. 4, p. 516-520, 2010.

NAVES, R. L.; GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R. **Controle de doenças fúngicas em uvas de mesa na região Noroeste do Estado de São Paulo**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. 17 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 68).

OOTANI, M. A. **Atividade inseticida, antifúngica e herbitóxica dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus***. 2010. 122f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campus Universitário de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2010.

PERINA, F. J.; AMARAL, D. C.; FERNANDES, R. S.; LABORY, C. R.; TEIXEIRA, G. A.; ALVES, E. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol against *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler: effects on growth, viability, early infection and cellular mode of action. **Pest Management Science**, London, 2014. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.3933/epdf>>. Acesso em: 12 jan. 2015.

PIATTI, A.; SCHNEIDER, C. F.; NOZAKI, M. H. Efeito *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre o crescimento e desenvolvimento de *Penicillium* sp. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1033-1040, 2011.

POMMER, C. V.; MAIA, M. L. Introdução. In: POMMER, C. V. (Ed.) **Uva: tecnologia da produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 11-36.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statics Computing, 2011. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 10 jun. 2015.

RIBEIRO, M. C. V.; PEREIRA, T. dos S.; PEREIRA, R. B.; VIDAL, M. C.; PINHEIRO, J. B. Óleos essenciais no controle do oídio em pimentão. In: JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA HORTALIÇAS, 3., 2013, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2013. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/975044/1/OLEOSESSENCIAISNOCONTROLEDOOIDIOEMPIMENTAO.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2015.

SILVA, C. M.; BOTELHO, R. V.; FARIA, C. M. R. D.; STADLER, T. P. Controle alternativo do míldio da videira com extrato aquoso de cinamomo e óleo vegetal. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 4, p. 587-594, 2012.

SILVA, C. R.; BOTELHO, R. V.; FARIA, C. M. D. R. Ação de extratos de cinamomo sobre *Plasmopara viticola*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, supl. 2, p. 639-649, 2014.

SILVA, H. R.; SOUZA, P. E. D.; SILVA, J. L. D.; FREITAS, M. L. O. Potencial de óleos essenciais no manejo da cercosporiose em plantas de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 46, 2013, Ouro Preto MG., 2013, Ouro Preto, MG. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, p. 632-632, 2013.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER V. Óleos voláteis. In: GOSMANN, G., et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2004. p. 467-95.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N.; FILHO, J. M. B. Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 4, p. 549-558, 2005.

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**, Oxford, v. 24, n. 1, p. 39-46, 2008.

VILELA, G. R. **Efeito do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre espécies produtoras de aflatoxinas**. 2007. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2007.

ZAMBOLIM, L.; JESUS JÚNIOR, W. C. O essencial dos fungicidas empregados no controle de doenças. In: ZAMBOLIM, L. et al. (Ed.). **Produtos fitossanitários (fungicidas, inseticidas, acaricidas e herbicidas)**. Viçosa, MG: UFV/ DFP, 2008. p. 77-148.

CAPÍTULO 2. ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DO MÍLDIO DA VIDEIRA EM CÂMARA DE CRESCIMENTO

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos avaliar, em câmara de crescimento, o efeito antifúngico sobre o míldio da videira dos óleos essenciais de canela, eucalipto globulus, manjerona, melaleuca, menta piperita, orégano e tomilho branco em comparação com o fungicida mancozebe + metalaxil-M, determinando os seguintes aspectos: a persistência da atividade antifúngica dos óleos essenciais sobre *P. viticola*; a resistência à chuva dos óleos essenciais; e o efeito curativo e/ou preventivo dos óleos essenciais sobre o míldio da videira. Em todos os experimentos utilizaram o delineamento experimental em blocos casualizados. Os óleos essenciais mostram atividade antifúngica sobre *P. viticola* nas concentrações a partir de 0,5%, quando a inoculação de esporos ocorreu com uma e seis horas após a aplicação dos óleos. A redução na eficiência dos óleos foi observada quando as plantas foram inoculadas após 12 e 24 horas após a aplicação dos mesmos. Os óleos de canela e tomilho branco foram os mais eficientes no controle do míldio em plantas inoculadas 24 horas após a sua aplicação. O tratamento preventivo mostrou maior eficiência na redução da severidade do míldio. No controle preventivo e curativo do míldio da videira, além do fungicida mancozebe + metalaxil-M, o óleo de canela foi o mais eficiente. Todos os óleos essenciais avaliados, assim como o fungicida, impediram o desenvolvimento do míldio na ausência de chuva simulada. Entre a chuva simulada com 10 e 30 mm não foram observadas diferenças significativas, porém todos os óleos essenciais proporcionaram o menor controle sobre o míldio da videira após 10 mm de chuva. Nestas condições, os óleos de canela e tomilho branco foram os mais eficientes no controle da doença, mas inferiores ao controle proporcionado pelo fungicida.

Palavras-chave: Controle alternativo. Chuva simulada. Persistência. Efeito curativo. Efeito preventivo. Severidade do míldio.

ABSTRACT

ESSENTIAL OILS ON GRAPEVINE DOWNY MILDEW IN THE GROWTH CHAMBER CONDITIONS

This study aimed to evaluate, in the growth chamber conditions, the fungitoxic effect of the essential oils of cinnamon, eucalyptus globulus, marjoram, melaleuca, mint piperita, oregano and white thyme compared with the fungicide mancozeb + metalaxyl-M, on grapevine downy mildew, determining the following aspects: the persistence of fungitoxic

effect of essential oils on *P. viticola*; the resistance of essential oils to the rain; and the curative and / or preventive effect of essential oils on grapevine downy mildew. For all the experiments, we used the experimental randomized block design. All essential oils show fungitoxic effect against *P. viticola* in concentrations from 0.5%, in the growth chamber, when the spores were inoculated one or six hours after the oils application. The reduction in the oil efficiency where observed when plants were inoculated after 12 and 24 hours after oils application. The cinnamon and white thyme were the most efficient in the downy mildew control when plants were inoculated 24 hours after oil application. The preventive treatment was more effective in reducing the downy mildew severity. Moreover Mancozeb + Metalaxyl-M fungicide, the cinnamon essential oil was more efficient in preventive control and grapevine downy mildew. All evaluated essential oils prevented the mildew development in the simulated rainfall absence, similar to the tested fungicide. Between the 10 and 30 mm simulated rainfall no significant difference where observed, but all essential oils provided the lowest control of grapevine mildew after 10 mm of rain. Under these conditions, the essential oils of cinnamon and white thyme were the most effective in controlling the disease, but were lower than the control provided by the fungicide.

Keywords: Alternative control. Simulated rainfall. Persistence. Curative effect. Preventive effect. Mildew severity.

1 INTRODUÇÃO

O míldio é considerado uma das principais doenças da videira no mundo (SCHWANDER et al., 2012; ROUXEL et al., 2013). Esta doença está presente em grande parte das regiões produtoras, principalmente quando predominam condições de temperaturas amenas e de alta umidade relativa do ar ao longo do ciclo vegetativo da cultura. Com as condições favoráveis e na ausência de manejo adequado, o míldio pode destruir até 70% da área foliar da cultura durante o ciclo da cultura (AGRIOS, 2005).

Esta é uma doença de difícil controle, devido a sua natureza destrutiva, principalmente quando a infecção ocorre nos estádios iniciais de desenvolvimento vegetativo. Em decorrência dos danos causados, este patógeno influencia diretamente na redução da qualidade dos frutos e no desfolhamento precoce (ORLANDINI et al., 2002; GAVA et al., 2004). A estratégia atual para o controle da doença baseia-se na utilização massiva de agrotóxicos para garantir uma colheita com boa qualidade.

Em regiões produtoras do noroeste do Estado de São Paulo, chegam a ser realizadas de 101 a 150 pulverizações por ciclo da cultura, as quais são feitas de forma preventiva e muitas vezes sem necessidade, elevando os custos de produção (COSTA et al., 2012). Desta forma, o tratamento químico intenso não só acrescenta altos custos para a produção da uva, mas, também, causa problemas ambientais que são incompatíveis com as exigências modernas para a agricultura sustentável.

Novas ferramentas efetivas e economicamente viáveis para o controle de doenças devem ser estudadas, visando à conservação do meio ambiente e à qualidade de vida dos consumidores e trabalhadores, manejando doenças com uso de produtos ou substâncias naturais, objetivando aperfeiçoar a produção de alimentos saudáveis de alta qualidade e menor impacto ao meio ambiente, condições em que os óleos essenciais têm mais potencial (KHALEDI et al., 2015).

Estes óleos essenciais são metabólitos secundários voláteis, que se caracterizam por serem misturas complexas de compostos orgânicos capazes de gerarem sabores e/ou aromas. Alguns contêm um componente majoritário em elevada concentração (EDRIS, 2007; ANDRADE, 2010). Outro aspecto importante é o fato de serem naturais e biodegradáveis, além de, geralmente, apresentarem baixa toxicidade aos mamíferos (FIGUEIREDO et al., 2008). Por isto, vários autores avaliaram a eficiência de óleos essenciais no controle de fitopatógenos (BANIHASHEMI; ABIVARDI, 2011; SILVA et al., 2012; KOCEVSKI et al., 2013; MAHILRAJAN et al., 2014; KHALEDI et al., 2015), obtendo resultados promissores.

Visando contribuir para mais uma opção para o controle de doenças de plantas, este trabalho teve como objetivo avaliar, em câmara de crescimento, o efeito antifúngico sobre o míldio da videira de diversos óleos essenciais, em comparação com o fungicida mancozebe + metalaxil-M, por meio dos seguintes aspectos: determinar a persistência da atividade antifúngica dos óleos essenciais sobre *P. viticola*; determinar a resistência à chuva dos óleos essenciais; determinar o efeito curativo e/ou preventivo dos óleos essenciais sobre o míldio da videira.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo inicial

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Engenharia, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Ilha Solteira. Com base em

resultados de experimentos anteriores (FIALHO, 2012) foram selecionados os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), eucalipto globulus (*Eucalyptus globulus* Labill), manjerona (*Origanum majorana* L.), melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel), menta piperita (*Mentha piperita* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.), obtidos das folhas e o de tomilho branco (*Thymus vulgaris* L.), obtido das flores e folhas, os quais foram adquiridos da Empresa Ferquima Ind. e Com. Ltda. (Vargem Grande Paulista-SP). Os óleos essenciais foram utilizados nas concentrações de 0,5 e 1% em relação ao volume total. Para o tratamento testemunha foi utilizado apenas água deionizada esterilizada.

Como controle químico para comparação com os óleos essenciais, conforme recomendação do AGROFIT (2015), foi utilizado o produto comercial Ridomil Gold MZ, um fungicida específico para o controle do míldio, o qual é constituído da mistura de mancozebe + metalaxil-M, correspondendo, respectivamente a 640 + 40 g i.a. kg⁻¹ do p.c. e recomendado na dose de 2,5 g do p.c. L⁻¹ de água, o que corresponde, respectivamente, a 1,6 + 0,1 dos i.a. L⁻¹. Para que houvesse mistura perfeita dos óleos essenciais ou fungicida mais água, eles foram misturados com o detergente Tween 80 a 0,5%.

Para todos os experimentos foram utilizadas plantas de videira da variedade Niágara Branca, mantidas em vasos sob câmara de crescimento. Foram selecionadas as plantas com número e tamanho de folhas homogêneas, aos 45 dias após a poda. Todos os produtos foram aplicados com auxílio de um pulverizador manual e para a aplicação, os ramos de videira foram envolvidos em um saco plástico transparente, para evitar a deriva.

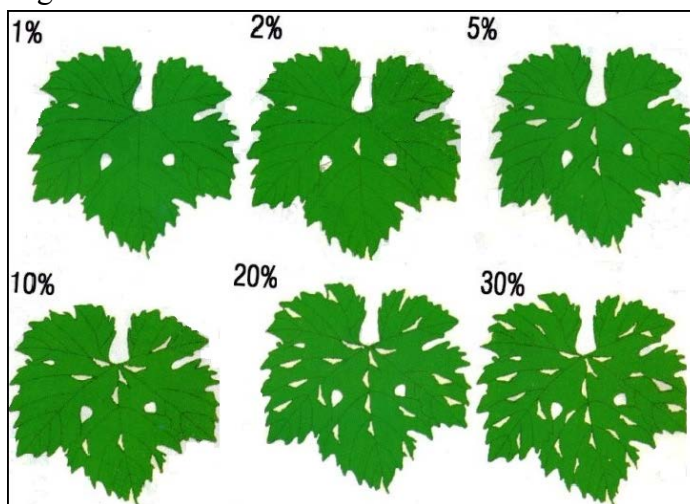
Para a inoculação de esporos em plantas de videira foram preparadas às suspensões de esporos de *P. viticola*. Folhas de videiras com sintomas de míldio foram coletadas e os esporos transferidos, com o auxílio de um pincel, para um béquer contendo 10 mL de água deionizada esterilizada. As suspensões de esporos foram filtradas em gaze dupla e sua concentração foi ajustada para a concentração de 2×10^4 esporos mL⁻¹.

Com o aparecimento dos primeiros sintomas, cinco dias após a inoculação, avaliou-se a severidade do míldio em oito folhas por planta, previamente identificadas. A severidade do míldio foi determinada pela percentagem de área foliar lesionada, conforme escala diagramática (Figura 1) descrita por Azevedo (1997). No total, foram realizadas duas avaliações com intervalos de 15 dias. Todas as plantas foram mantidas em câmara de crescimento por 20 dias.

Cada repetição foi constituída por uma planta sendo que nesta foram avaliadas oito folhas, de modo que foram avaliadas 32 folhas por tratamento. Os dados da severidade foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Skott-Knott, a 5% de

probabilidade. Todas as análises foram feitas com auxílio do programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

Figura 1. Escala diagramática para avaliação da severidade do míldio e oídio da uva, expressa pela percentagem da área foliar lesionada.



Fonte: Azevedo (1997)

2.2 Avaliação da persistência da atividade dos óleos essenciais sobre o míldio da videira em câmara de crescimento

Para determinar a persistência da atividade dos óleos essenciais no controle do míldio em plantas de videira, os óleos essenciais, fungicida ou a água deionizada foram aplicados uma, seis, 12 e 24 horas antes da inoculação com a suspensão de esporos de *P. viticola*. Após cada período de aplicação dos óleos, as plantas foram inoculadas com a suspensão de esporos, com pulverizador manual até o ponto de escorrimento.

A sequência, as plantas foram mantidas em câmara de crescimento, no escuro, por 24 horas a 20°C e umidade relativa de 98%, para proporcionar um microclima úmido e favorável à infecção, segundo metodologia adaptada de Dagostin et al. (2010). Após esse período apenas o fotoperíodo foi alterado para 12 horas de luz.

Com o aparecimento dos primeiros sintomas do míldio foram realizadas duas avaliações, ou seja, aos cinco e aos 20 dias após a inoculação de esporos. O delineamento experimental adotado foi do tipo blocos casualizados, em arranjo fatorial 7 x 2 x 4 + 2 (óleos essenciais x concentrações x períodos de aplicação + testemunha + fungicida (tratamentos adicionais)), com quatro repetições.

2.3 Avaliação do efeito curativo e/ou preventivo dos óleos essenciais sobre o míldio da videira em câmara de crescimento

Para a avaliação do efeito preventivo dos produtos, as plantas foram pulverizadas com 20 mL dos óleos essenciais, fungicida ou água deionizada. Após 24 horas, elas foram inoculadas com 20 mL da suspensão de esporos de *P. viticola* por planta. Em seguida, as plantas foram mantidas em câmara de crescimento, no escuro por 24 horas a 20°C e umidade relativa de 98%. Após esse período inicial, o fotoperíodo foi alterado para 12 horas de luz.

Para a avaliação do efeito curativo dos produtos, as plantas foram pulverizadas com a suspensão de esporos e mantidas em câmara de crescimento, no escuro por 24 horas a 20°C e umidade relativa de 98%. Após 24 horas da inoculação, as plantas foram transferidas para a câmara de crescimento, pulverizadas com 20 mL dos produtos em avaliação por planta e, novamente, colocadas em câmara de crescimento a 20 °C e 98 % de umidade relativa, com 12 horas de luz, para promover o desenvolvimento de *P. viticola*.

Para os dois experimentos, com o aparecimento dos primeiros sintomas do míldio, foram realizadas duas avaliações, ou seja, aos cinco e aos 20 dias após a inoculação de esporos. O delineamento experimental adotado foi do tipo blocos casualizados, em arranjo fatorial 7 x 2 x 2 + 2 (óleos essenciais x concentrações x períodos de aplicação + testemunha + fungicida (tratamentos adicionais)), com quatro repetições.

2.4 Avaliação da resistência dos óleos essenciais à chuva em câmara de crescimento

Para a avaliação da resistência dos óleos essenciais à chuva, as plantas foram pulverizadas com os sete óleos essenciais, fungicida ou água deionizada para o tratamento testemunha. Quatro horas após a aplicação dos produtos, estas foram expostas a 0, 10 e 30 mmh⁻¹ de chuva simulada, de acordo com a metodologia modificada de Zanatta et al. (2008).

A chuva simulada foi realizada utilizando um pulverizador costal com uma barra com duas pontas, fixada a 1,2 m de solo, em câmara de crescimento, protegida do vento e regulada para produzir gotas semelhantes em tamanho de 0,3 a 2,5 mm. Foram utilizadas pontas do tipo cone cheio 110-02 e 110-03, para simular 10 e 30 mmh⁻¹ de chuva, respectivamente. A intensidade da chuva simulada (mmh⁻¹), *i*, foi medida pela relação entre a altura pluviométrica (ΔP) e a duração da precipitação (Δt): $i = \Delta P / \Delta t$.

Depois de receber a chuva simulada, as plantas foram deixadas secar por 4 horas e, em seguida, inoculadas com a suspensão de esporos. Após a inoculação, as plantas foram

acondicionadas em câmara de crescimento no escuro por 24 horas a 20 °C e umidade relativa de 98%. Com o aparecimento dos primeiros sintomas do míldio foram realizadas duas avaliações, ou seja, aos cinco e aos 20 dias após a inoculação de esporos.

O delineamento experimental adotado foi do tipo blocos casualizados, em arranjo fatorial 7 x 2 x 3 + 2 (óleos essenciais x concentrações x chuvas simuladas + testemunha + fungicida (tratamentos adicionais)), com quatro repetições.

3 RESULTADOS

3.1 Efeito da persistência da atividade dos óleos essenciais sobre o míldio da videira em câmara de crescimento

Levando em consideração a avaliação da incidência da doença com base na presença de sintomas de míldio nas folhas de videira inoculadas, não foram observados sintomas em nenhum dos tratamentos, após as duas avaliações, para os óleos aplicados uma e seis horas antes da inoculação de esporos de *P. viticola*. Em relação à testemunha, todos os tratamentos impediram o desenvolvimento da doença, para os produtos aplicados 12 ou 24 horas antes da inoculação de esporos, cinco ou 20 dias após a inoculação de esporos (Tabela 1).

Foi constatado, por meio da análise de variância, que houve efeito significativo ($p < 0,01$) com relação à severidade do míldio da videira em câmara de crescimento em função da interação tratamentos x concentrações, tratamentos x horas, bem como para os fatores isoladamente, cinco e 20 dias após a inoculação de esporos. A interação concentrações x horas foi significativa a 5% de probabilidade para cinco dias após a inoculação de esporos, mas não para 20 dias após a inoculação. Para a interação tratamento x concentrações x horas, foi observado o inverso, ou seja, significância a 5% de probabilidade para 20 dias após a inoculação e não para cinco dias após a inoculação de esporos de *P. viticola* (Tabela 1).

Na primeira avaliação (cinco dias após a inoculação) observaram-se sintomas de míldio em todos os óleos essenciais avaliados (Tabela 1). Neste mesmo período de avaliação, não houve diferença significativa entre os óleos essenciais sobre a severidade do míldio, 12 ou 24 horas após sua aplicação. Após 12 horas da aplicação dos óleos essenciais para a inoculação de esporos, os óleos de canela e tomilho branco, nas concentrações de 0,5 e 1%, foram mais eficientes, com a severidade do míldio da videira de 9 e 7%, respectivamente, não diferindo entre si e diferindo dos demais. Neste mesmo período de avaliação, os óleos de

manjerona, melaleuca e menta piperita a 0,5%, foram menos eficientes, proporcionando severidade de 16%, não diferindo entre si e diferindo dos demais óleos (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de F e percentagem de folhas de videira com sintomas de míldio por tratamento. Plantas de videira pulverizadas com os óleos essenciais e inoculadas com a suspensão de esporos de *Plasmopara viticola*, 12 e 24 horas após. A avaliação do míldio foi realizada aos cinco e 20 dias após a inoculação. Ilha Solteira/SP, 2014.

Tratamentos (Trat.)	5 DAI ¹			20 DAI	
	12 HAA ²	24 HAA	Média	12 HAA	24 HAA
----- Concentração 0,5% ³ -----					
Canela	5	13	9 A(B)	7 Aa(B)	15 Ab(B)
Eucalipto globulus	6	19	13 C(B)	9 Ba(B)	22 Cb(B)
Manjerona	8	23	16 D(B)	11 Ca(B)	26 Db(B)
Melaleuca	9	23	16 D(B)	13 Da(B)	26 Db(B)
Menta piperita	9	23	16 D(B)	14 Da(B)	26 Db(B)
Orégano	6	16	11 B(A)	10 Ba(A)	18 Bb(A)
Tomilho branco	5	13	9 A(B)	7 Aa(A)	16 Ab(B)
Médias	7 A	18 B	13	10 A	18 B
----- Concentração 1,0% -----					
Canela	4	10	7 A(A)	6 Aa(A)	11 Ab(A)
Eucalipto globulus	5	15	10 B(A)	7 Aa(A)	18 Cb(A)
Manjerona	6	19	13 D(A)	9 Ba(A)	21 Db(A)
Melaleuca	5	18	11 C(A)	8 Ba(A)	21 Db(A)
Menta piperita	8	18	13 D(A)	11 Ca(A)	23 Db(A)
Orégano	6	16	11 C(A)	9 Ba(A)	19 Cb(A)
Tomilho branco	4	11	7 A(A)	6 Aa(A)	14 Bb(A)
Médias	5 A	15 B	10	9 A	19 B
Testemunha	22	24	23	26	26
manconzebe + metalxil-M	0	0,5	0,25	0	1
Valor de F					
Trat.		101,13**		122,07**	
Concentrações		129,62**		145,89**	
Horas		2602,50**		2228,71**	
Trat.*Concentrações		6,98**		6,77**	
Trat.*Horas		25,92**		21,03**	
Concentrações*Horas		10,89*		1,45 ^{ns}	
Trat.*Concentrações*Horas		1,49 ^{ns}		2,29*	
Testemunha vs Fatorial		428,57**		365,60**	
Fungicida vs Fatorial		452,66**		573,61**	
CV (%)		9,21		8,04	

Médias seguidas de mesma letra, para cada concentração ou dia após a inoculação, não diferem estatisticamente entre si, minúscula na linha, maiúscula na coluna e maiúscula dentro dos parênteses (comparando concentrações) pelo teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade. **: significativo a 1% de probabilidade; *: significativo a 5% de probabilidade; ^{ns}: não significativo a 5% de probabilidade. ¹Dias após a inoculação; ²Horas após a aplicação; ³Concentração expressa em % em relação ao volume do óleo essencial.

Fonte: Do próprio autor

Apenas para o óleo essencial de orégano não houve diferença significativa entre as concentrações de 0,5 e 1% sobre a severidade do míldio. Para os óleos essenciais avaliados, a concentração de 1% foi significativamente mais eficiente sobre a severidade do míldio, quando comparada com a concentração de 0,5% (Tabela 1).

Na segunda avaliação, 20 dias da inoculação de esporos, após 12 horas da aplicação dos óleos essenciais para a inoculação de esporos, ressalta-se que os óleos de canela, eucalipto globulus e tomilho branco a 0,5 e 1% foram os mais eficientes sobre o míldio, que proporcionaram severidade máxima de 7%, não diferindo entre si e diferindo dos demais (Tabela 1). Destacam-se os óleos de melaleuca a 0,5% e o de menta piperita a 0,5 e 1% como os menos eficientes sobre o míldio da videira, após 12 horas da sua aplicação.

Na segunda avaliação, observa-se redução significativa na eficiência de todos os óleos essenciais sobre a severidade do míldio, após 24 horas da sua aplicação. Nesta avaliação, os óleos de canela e tomilho branco foram os mais eficientes a 0,5 e 1% e os menos eficientes foram os de manjerona, melaleuca e menta piperita nas concentrações de 0,5 e 1%, pois proporcionaram severidade mínima de 21%, não diferindo entre si e diferindo dos demais óleos. Para os óleos essenciais de orégano após 12 e 24 horas da aplicação dos produtos, e de tomilho branco após 12 horas da aplicação dos produtos, não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de 0,5 e 1% sobre o míldio da videira (Tabela 1)

O fungicida foi mais eficiente que todos os óleos essenciais, 12 e 24 horas após a aplicação dos produtos para a inoculação de esporos, após a primeira e a segunda avaliação dos sintomas de míldio.

3.2 Efeito curativo e/ou preventivo dos óleos essenciais sobre o míldio da videira em câmara de crescimento

Em relação à testemunha, observa-se que todos os tratamentos impediram o desenvolvimento da doença, para os produtos aplicados antes ou após a inoculação de esporos, cinco ou 20 dias após a inoculação de esporos (Tabela 2). Houve efeito significativo ($p < 0,01$) com relação à incidência do míldio da videira, em câmara de crescimento, em função da interação tratamento x concentração x efeito, bem como para os fatores isoladamente, cinco e 20 dias após a inoculação. A interação tratamento x concentração e tratamento x efeito foi significativa a 5% de probabilidade cinco e 20 dias após a inoculação de esporos de *P. viticola*. A interação concentração x efeito não foi significativa a 5% de probabilidade cinco e 20 dias após a inoculação.

Tabela 2. Valores de F e severidade do míldio da videira sob o efeito preventivo e curativo de sete óleos essenciais, nas concentrações de 0,5 e 1%, e um fungicida aplicado em folhas de videira, antes e após a inoculação de *Plasmopara viticola*. Ilha Solteira/SP.

Tratamentos (Trat.)	5 DAI ¹		20 DAI	
	Prev ²	Cura ³	Prev	Cura
----- Concentração 0,5% ⁴ -----				
Canela	9 Aa(B)	14 Ab(A)	10 Aa(B)	16 Ab(A)
Eucalipto globulus	14 Ca(B)	18 Bb(A)	15 Ba(B)	20 Bb(A)
Manjerona	15 Ca(A)	19 Bb(A)	17 Ca(A)	22 Bb(A)
Melaleuca	20 Da(B)	22 Ca(A)	22 Da(B)	24 Ca(A)
Menta piperita	19 Da(B)	22 Ca(A)	21 Da(B)	24 Ca(A)
Orégano	16Ca(B)	21 Cb(B)	17 Ca(B)	23 Cb(B)
Tomilho branco	12 Ba(A)	14 Aa(A)	14 Ba(A)	16 Aa(A)
Média	15 A	19 A	17 A	18 A
----- Concentração 1,0% -----				
Canela	4 Aa(A)	11 Ab(A)	5 Aa(A)	13 Ab(A)
Eucalipto globulus	8 Ba(A)	20 Bb(A)	10 Ba(A)	22 Bb(A)
Manjerona	13Ca(A)	19 Bb(A)	15 Ca(A)	22 Bb(A)
Melaleuca	14 Ca(A)	21 Bb(A)	15 Ca(A)	23 Bb(A)
Menta piperita	11 Ca(A)	20 Bb(A)	13 Ca(A)	23 Bb(A)
Orégano	11 Ca(A)	13 Aa(A)	13 Ca(A)	15 Aa(A)
Tomilho branco	11 Ca(A)	14 Aa(A)	14 Ca(A)	16 Aa(A)
Média				
Testemunha	20	23	22	26
manconzebe + metalxil-M	1	1	1	1
Valor de F				
Trat.	37,44**		37,69**	
Concentração	60,87**		57,09**	
Efeito	144,82**		163,85**	
Trat.*Concentração	2,91*		3,39*	
Trat.*Efeito	2,67*		3,90*	
Concentração*Efeito	13,27 ^{ns}		13,83 ^{ns}	
Trat.*Concentração*Efeito	3,24**		2,97*	
Testemunha vs Fatorial	31,64**		34,67**	
Fungicida vs Fatorial	144,63**		188,08**	
CV (%)	15,44		13,47	

Médias seguidas de mesma letra, para cada concentração ou dia após a inoculação, não diferem estatisticamente entre si, minúscula na linha, maiúscula na coluna e maiúscula dentro dos parênteses (comparando concentrações), pelo teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade. **: significativo a 1% de probabilidade; *: significativo a 5% de probabilidade; ns: não significativo a 5% de probabilidade. ¹Dias após a inoculação; ²Efeito preventivo; ³Efeito curativo; ⁴Concentração expressa em % em relação ao volume do óleo essencial

Fonte: Do próprio autor.

Na primeira avaliação dos sintomas do míldio, cinco dias após a inoculação de esporos, observou-se a severidade de 9 e 4% para o óleo essencial de canela a 0,5 e 1%, respectivamente, destacando-se como o óleo essencial mais eficiente no controle preventivo

do míldio da videira. Os menos eficientes a 0,5% foram os óleos essenciais de melaleuca e menta piperita e a 1% os óleos essenciais de manjerona, melaleuca, menta piperita, orégano e tomilho branco (Tabela 2).

Para o efeito curativo dos óleos essenciais, na primeira avaliação os óleos de canela e tomilho branco foram mais eficientes, na concentração de 0,5%, pois apresentaram severidade máxima de 14% em folhas de videira. Na concentração de 1%, os óleos de canela, orégano e tomilho branco foram os mais eficientes sobre a severidade do míldio, apresentando severidade máxima de 14%, não diferindo entre si e diferindo dos demais. Como os menos eficientes a 0,5% destacam-se os óleos essenciais de melaleuca, menta piperita e orégano e a 1% os de eucalipto, manjerona, melaleuca e menta piperita (Tabela 2).

Na segunda avaliação dos sintomas do míldio, 20 dias após a inoculação, a severidade máxima foi de 10 e 5% para o óleo de canela nas concentrações 0,5 e 1%, respectivamente, destacando-se o óleo como o mais eficiente no controle preventivo do míldio da videira. Na segunda avaliação para o efeito curativo dos óleos essenciais, os mais eficientes sobre o míldio foram os óleos de canela e tomilho branco na concentração 0,5%, apresentando severidade máxima de 16% em folhas de videira. Na concentração de 1%, os óleos essenciais de canela, orégano e tomilho branco, foram os mais eficientes sobre a severidade do míldio, apresentando severidade máxima de 16% (Tabela 2).

Para os óleos essenciais de manjerona e tomilho branco, no tratamento preventivo não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações e a severidade do míldio da videira, tanto após a primeira como após a segunda avaliação dos sintomas do míldio. No tratamento curativo, apenas o óleo essencial de orégano apresentou diferença significativa entre as concentrações e a severidade do míldio, após as duas avaliações. O fungicida foi mais eficiente no tratamento preventivo e curativo do que todos os óleos essenciais avaliados, após cinco e 20 dias da inoculação de esporos de *P. viticola* (Tabela 2).

Entre o tratamento curativo e preventivo sobre a severidade do míldio, houve diferença significativa, após as duas avaliações, para os óleos essenciais de canela, eucalipto globulus, manjerona e orégano na concentração de 0,5% (Tabela 2). Na concentração de 1%, apenas para os óleos de orégano e tomilho branco não foram observados diferença significativa entre o tratamento preventivo e o curativo sobre o míldio da videira. Para todos os óleos essenciais, onde houve diferença significativa entre os tratamentos, observa-se que, quando aplicados antes da inoculação de esporos, estes foram mais eficientes sobre a severidade do míldio.

3.3 Resistência dos óleos essenciais à chuva em câmara de crescimento

Todos os óleos essenciais avaliados impediram o desenvolvimento do míldio na ausência de chuva simulada, semelhantes ao fungicida testado. A chuva simulada afetou negativamente o controle do míldio da videira e, após 10 ou 30 mm de chuva simulada, todos os óleos essenciais avaliados perderam efeito sobre o controle da doença (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de F e percentagem de folhas de videira com sintomas de míldio por tratamento, sendo as plantas inoculadas com *Plasmopara viticola*, após 10 e 30 mm de chuva simulada. Ilha Solteira/SP, 2015.

Tratamentos	Folhas de videira com sintomas de míldio (%)			
	5 DAI ¹		20 DAI	
	10 mm ²	30 mm ³	10 mm	30 mm
Canela	15 A		18 A	
Eucalipto globulus	19 B		22 B	
Manjerona	22 C		25 C	
Melaleuca	19 B		22 B	
Menta piperita	22 C		27 C	
Orégano	18 B		21 D	
Tomilho branco	15 A		18 A	
Média	20 a		23 b	
Testemunha	24		28	
manconzebe + metalxil-M	7		9	
Valor de F				
Tratamento	13,77**		17,35**	
Concentração	5,85*		3,63 ^{ns}	
Chuva	21,94**		22,33**	
Tratamento*Concentração	0,34 ^{ns}		0,21 ^{ns}	
Tratamento*Chuva	0,07 ^{ns}		0,24 ^{ns}	
Concentração*Chuva	0,58 ^{ns}		0,01 ^{ns}	
Tratamento*Concentração*Chuva	0,99 ^{ns}		0,03 ^{ns}	
Testemunha vs Fatorial	29,86**		13,63**	
Fungicida vs Fatorial	32,09**		66,64**	
CV (%)	18,00		14,26	

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott-Knott a 1% de probabilidade; **: significativo a 1% de probabilidade; *: significativo a 5% de probabilidade; ns: não significativo a 5% de probabilidade.

¹Dias após a inoculação; ²Chuva simulada de 10 mm; ³Chuva simulada de 30mm.

Fonte: Do próprio autor.

Em função dos fatores tratamento e chuva simulada, houve efeito significativo ($p < 0,01$) sobre a incidência do míldio da videira, em câmara de crescimento, cinco e 20 dias após a inoculação. O fator concentração foi significativo a 5% de probabilidade, apenas cinco

dias após a inoculação de esporos. As interações analisadas não foram significativas cinco e 20 dias após a inoculação de esporos (Tabela 3).

Nas duas avaliações, cinco e 20 dias após a inoculação de esporos, foram observadas variações na intensidade da chuva após a aplicação dos produtos, resultando na ausência não teve influência sobre a eficiência dos óleos essenciais no controle da doença (Tabela 3). Houve ausência de diferença significativa sobre a severidade do míldio após a chuva simulada para as concentrações de 0,5 e 1% dos óleos essenciais.

Após a primeira avaliação, cinco dias após a inoculação de esporos, os óleos essenciais mais eficientes após a chuva simulada foram os de canela e tomilho branco, que exibiram severidade média de 15%, não diferindo entre si e diferindo dos demais. Os óleos de manjerona e menta piperita, com severidade média de 22%, destacam-se como os menos eficientes sobre o míldio da videira (Tabela 3).

Após a segunda avaliação, 20 dias após a inoculação de esporos, os óleos essenciais de canela e tomilho branco foram novamente os mais eficientes sobre o míldio da videira, após a chuva simulada. Estes apresentaram severidade média de 18%, não diferindo entre si e diferindo dos demais óleos essenciais. Os óleos de manjerona e menta piperita com severidade média de 25 e 27%, respectivamente, foram os menos eficientes sobre o míldio da videira após a chuva simulada.

4 DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho indicam que os óleos essenciais são produtos promissores no controle do míldio da videira. Avaliando a persistência da atividade dos óleos sobre o míldio da videira, ressalta-se que todos os tratamentos avaliados impediram o desenvolvimento da doença após duas avaliações, uma e seis horas após a aplicação dos produtos (Tabela 3). Os óleos essência, possivelmente, formaram uma barreira à germinação e penetração do patógeno na superfície das folhas. Dessa forma, ao ocorrer a inoculação, os esporos do patógeno entraram imediatamente em contato com os óleos essenciais, os quais acarretam na inibição ou, até mesmo, no retardo da germinação destes. Estes resultados confirmam a eficiência dos óleos essenciais na inibição da germinação de esporos encontrados em outros estudos realizados *in vitro*.

Após 12 e 24 horas da aplicação dos produtos para a inoculação de esporos, em todos os óleos essenciais avaliados foram constatados sintomas de míldio em folhas de videira (Tabela 1). Após as duas avaliações, 12 e 24 horas após a aplicação dos produtos para a

inoculação, os óleos de canela e tomilho branco mostraram maior eficiência no controle do míldio da videira, proporcionando severidade média máxima de 16% (Tabela 1).

Na segunda avaliação, após 24 horas da aplicação dos produtos para a inoculação, a eficiência na redução na severidade do míldio foi significativa para todos os óleos essenciais estudados. A volatilização dos compostos voláteis dos óleos essenciais pode favorecer o desenvolvimento do míldio, uma vez que o patógeno necessita apenas de temperaturas entre 18 e 25°C e água livre nos tecidos, por um período mínimo de 2 horas, para que ocorra a infecção, podendo completar seu ciclo em quatro dias (AMORIM; KUNIYUKI, 2005).

Avaliando óleos essenciais sobre ferrugem asiática da soja, Silva et al. (2012) também verificaram que o efeito protetor dos óleos essenciais diminuía à medida que aumentava o intervalo entre as pulverizações dos óleos e a inoculação do patógeno. De acordo com Vidhyasekaran (2004), a redução no efeito protetor dos óleos essenciais pode ser resultado da volatilização de compostos do óleo ou mesmo sua degradação pela luz, oxigênio ou temperatura, reduzindo ou até anulando a capacidade de ação do óleo essencial. Além do mais, os óleos e os extratos vegetais são menos estáveis se usados por pulverizações e aplicações mais frequentes são necessárias para obter-se um manejo eficiente (SOUZA; SCHURT, 2013).

Analizando a interação entre as duas épocas de aplicação dos óleos essenciais, o tratamento preventivo apresentou mais eficiência no controle da doença (Tabela 2). Lucas (2012) constatou que os óleos essenciais foram promissores na redução da severidade da pinta preta do tomateiro. Ainda de acordo com o autor, os óleos de canela, eucalipto, melaleuca e tomilho branco foram mais eficientes quando aplicados antes da inoculação de *A.solani*.

Sarmento-Brum et al. (2013) avaliaram a fungitoxicidade *in vivo* dos óleos essenciais de capim-limão, citronela, erva-cidreira e menta-piperita sobre o fungo *Colletotrichum graminicola* e, também, concluíram que o efeito preventivo dos óleos sobre a antracnose do sorgo foi mais eficiente que o curativo.

Na primeira avaliação, cinco dias após a inoculação de esporos, a maior severidade observada foi de 9%, constatada para o óleo essencial de canela, se mostrando como o mais eficiente no controle preventivo do míldio da videira. Resultado semelhante foi encontrado por Bitu (2014) que avaliou o potencial do óleo essencial de canela nos controles preventivo e curativo da mancha alvo em condições de pós-colheita na cultura do mamoeiro causada pelo fungo *Corynepora cassicola*. O autor concluiu que em pós-colheita o tratamento preventivo foi mais eficiente que o tratamento curativo reduzindo o diâmetro das lesões nos tratamentos e apresentando percentual de inibição do crescimento de 82 a 91 % do diâmetro das lesões.

Para o efeito curativo dos óleos essenciais, após a segunda avaliação, os mais eficientes foram os óleos de canela, orégano e tomilho branco, que apresentaram severidade máxima de 14% (Tabela 2). Constatou-se, na segunda avaliação, severidade máxima de 10% para o óleo de canela, sendo o óleo essencial mais eficiente no controle preventivo do míldio da videira. Para o efeito curativo dos óleos, os óleos de canela, orégano e tomilho branco, foram os mais eficientes, pois apresentaram severidade máxima de 16% em folhas de videira.

Os óleos essenciais avaliados foram eficientes no controle do míldio da videira na ausência de chuva simulada, proporcionando controle de 100%, semelhante ao fungicida testado. A chuva simulada afetou negativamente o controle do míldio da videira e, após 10 mm de chuva simulada, todos os óleos essenciais avaliados perderam seu efeito sobre o controle do míldio da videira (Tabela 3).

Não houve diferença significativa entre as concentrações de 0,5 e 1% dos óleos essenciais sobre a severidade do míldio após a chuva simulada de 10 e 30 mm. Após cinco e 20 dias da inoculação de esporos, os óleos essenciais mais eficientes após a chuva simulada foram os óleos de canela e tomilho branco, que apresentaram severidade média máxima de 18% (Tabela 3). De acordo com os resultados encontrados, os óleos essenciais avaliados possuem baixa persistência após 10 ou 30 mm de chuvas.

Avaliando o efeito do óleo essencial de canela sobre a sarna da maçã, causada por *Venturia inaequalis*, Nagy et al. (2014) encontraram uma redução na eficiência do óleo de 92 para 65% no controle da doença, após a chuva simulada de 5 mm. Dagostin et al. (2010) relataram redução na eficiência do extrato de sálvia sobre *P. viticola*, após chuva simulada de 10 mm em câmara de crescimento.

Os óleos essenciais de canela e de tomilho branco foram os mais eficientes no controle do míldio da videira em câmara de crescimento. Poucos trabalhos podem ser encontrados mostrando o efeito destes óleos essenciais sobre fitopatógenos em plantas. Abreu (2006), testando óleos de canela, eucalipto, melaleuca e menta piperita, comprovou o efeito destes no controle de *A. solani*, tanto em condições *in vitro* como em condições de campo. Medice et al. (2007) constataram que o óleo essencial de tomilho branco na concentração de 0,3%, reduziu a severidade da ferrugem da soja nas três avaliações realizadas.

Pereira et al. (2011) selecionou os óleos essenciais de canela e tomilho branco como os mais eficientes sobre a cercosporiose do cafeeiro. Lucas (2012) avaliou a eficiência dos óleos essenciais de canela, eucalipto, melaleuca e tomilho branco sobre a pinta preta do tomateiro e concluiu que todos os óleos essenciais reduziram a severidade da doença. Ribeiro (2013), buscando óleos essenciais com efeitos no controle do oídio do pimentão, destacou o óleo de

canela e tomilho branco como promissores no controle da doença. Bitu (2014) observou controle parcial do óleo essencial de canela sobre a doença mancha-alvo em plantas jovens do mamoeiro em câmara de crescimento.

5 CONCLUSÕES

- Os óleos essenciais de canela e tomilho branco são os mais eficientes no controle do míldio em plantas de videira inoculadas até 24 horas após a aplicação dos óleos.
- Os óleos essenciais possuem maior efeito preventivo sobre o míldio.
- O óleo essencial de canela e tomilho branco são os mais eficientes no controle preventivo do míldio da videira.
- A ocorrência de chuva afeta negativamente a eficiência dos óleos essenciais no controle da doença, porém após 10 e 30 mm de chuva simulada, os óleos de canela e tomilho branco foram os mais eficientes.
- Os óleos de canela e tomilho merecem mais estudos, pois se mostram promissores para o manejo do míldio da videira. O principal desafio para um próximo estudo é buscar a estabilidade destes óleos essenciais.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. L. M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006. 71 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.
- AGRIOS, G. N. **Plantpathology**. Burlington: Elsevier Academic, 2005. 922 p.
- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 27 fev. 2015.
- ANDRADE, M. A. **Óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus* e *Zingiber officinale*: catacterização química, atividade antioxidante e antibacteriana**. 2010. 83 f. Dissertação (mestrado em agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.
- AZEVEDO, L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: LASA, 1997.

BANIHASHEMI, Z.; ABIVARDI, C. Evaluation of fungicidal and fungistatic activity of plant essential oils towards plant pathogenic and saprophytic fungi. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 50, n. 2, p. 245-256, 2011.

BITU, P. I. M. **Bioatividade do óleo essencial de canela-da-índia (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) no controle da mancha-alvo do mamoeiro**. 2014. 55 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2014.

COSTA, T. V.; TARSITANO, M. A. A.; CONCEIÇÃO, M. A. F. Caracterização social e tecnológica da produção de uva para mesa em pequenas propriedades rurais da região de Jales - SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 3, p. 766-773, 2012.

DAGOSTIN, S.; FORMOLO, T.; GIOVANNINI, O.; PERTOT, I.; SCHMITT, A. *Salvia officinalis* extract can protect grapevine against *Plasmopara viticola*. **Plant Disease**, Minneapolis, v. 94, n. 5, p. 575–580, 2010.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, Malden, v. 21, n. 4, p. 308-323, 2007.

FIALHO, R. O. **Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre os agentes causais do míldio, oídio e ferrugem da videira (*Vitis* spp.)**. 2012. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2012.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 23, n. 4, p. 213-26, 2008.

GAVA, C. A. T.; TAVARES, S. C. C. H.; TEIXEIRA, A. H. C. **Determinação de modelos de associação entre variáveis climáticas e a ocorrência de Oídio e Míldio da videira no Vale do São Francisco**. Seminário Novas Perspectivas para o Cultivo da Uva sem Sementes. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2004. 14 p. (Embrapa Semi-Árido. Documentos 185).

KHALEDI, N.; TAHERI, P.; TARIGHI, S. Antifungal activity of various essential oils against *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* as major bean pathogens. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 118, n. 3, p. 704-717, 2015.

KOCEVSKI, D.; DU, M.; KAN, J.; JING, C.; LACANIN, I.; PAVLOVIC, H. Antifungal Effect of *Allium tuberosum*, *Cinnamomum cassia*, and *Pogostemon cablin* essential oils and their components against population of *Aspergillus* species. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 78, n. 5, p. M731–M737, 2013.

LUCAS, G. C. **Óleos essenciais no controle da pinta preta do tomateiro**. 2012. 92 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MAHILRAJAN, S.; NANDAKUMAR, J.; KAILAYALINGAM, R.; MANOHARAN, N. A.; SRIVIJEINDRAN, S. Screening the antifungal activity of essential oils against decay fungi from palmrah leaf handicrafts. **Biological Research**, Santiago, v. 47, n. 1, p. 35-40, 2014.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; JUNIOR, R. G. M.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

NAGY, W. G.; HOCHBAUM, T.; SÁROSI, S.; LADÁNYI, M. *In vitro* and *in planta* activity of some essential oils against *Venturia inaequalis* (Cooke) G. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, Cluj-Napoca, v. 42, n. 1, p. 109-114, 2014.

ORLANDINI, S.; DALLA MARTA, A.; D'ANGELO, I.; GENESIO, R. Application of fuzzy logic for the simulation of *Plasmopara viticola* using agrometeorological variables. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 33, p. 415-420, 2002.

PEREIRA, R. B. Lucas, G. C.; Perina, F. J.; Resende, M. L. V.; Alves, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123, 2011.

PEREIRA, R. B. Lucas, G. C.; Perina, F. J.; Resende, M. L. V.; Alves, E. Essential oils for rust control in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 1, p. 16-24, 2012.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2011. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 10 jun. 2015.

RIBEIRO, M. C. V.; PEREIRA, T. S.; PEREIRA, R. B.; VIDAL, M. C.; PINHEIRO, J. B. Óleos essenciais no controle do oídio em pimentão. In: JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA HORTALIÇAS, 3., 2013, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2013.

ROUXEL, M.; MESTRE, P.; COMONT, G.; LEHMAN, B.L.; SCHILDER, A.; DELMOTTE, F. Phylogenetic and experimental evidence for host-specialized cryptic species in a biotrophic oomycete. **New Phytologist**, Lancaster, v. 197, n. 1, p. 251-263, 2013.

SARMENTO-BRUM, R. B. C.; SANTOS, G. R. dos; CASTRO, H. G. de; GONÇALVES, C. G.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. do. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a antracnose do sorgo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, suplemento 1, p. 1549-1557, 2013.

SILVA, A. C.; SOUZA, P. E.; PINTO, J. E. B. P.; SILVA, B. M.; AMARAL, D. C.; CARVALHO, E. A. Essential oils for preventative treatment and control of Asian soybean rust. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 134, n. 4, p. 865-871, 2012.

SOUZA, G. R.; SCHAURT, D. A. Controle alternativo da mancha bacteriana do feijão-caupi com óleo essencial de *Lippia microphylla*. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, 3., 2013, Recife. **Anais...** Recife: IPA, 2013.

SCHWANDER, F.; EIBACH, R.; FECHTER, I.; HAUSMANN, L.; ZYPRIAN, E.; TÖPFER, R. Rpv10: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. **Theoretical and Applied Genetics**, Stuttgart, v. 124, n. 1, p. 163-176, 2012.

VIDHYASEKARAN, P. **Concise encyclopedia of plant pathology**. New York: Food Products Press, 2004. 619p.

ZANATTA, J. F.; PROCÓPIO, S. O.; MANICA, R.; PAULETTO, E. A.; CARGNELUTTI FILHO, A.; VARGAS, L.; SGANZERLA, D. C.; ROSENTHAL, M. D. A.; PINTO, J. J. O. Teores de água no solo e eficácia do herbicida Fomesaren no controle de *Amaranthus hybridus*. **Planta daninha**, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 143-155, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do final da década de 1980, a vitivinicultura no Brasil tem evoluído de maneira significativa. Embora o país ainda não possa ser considerado um produtor em escala mundial, a produção e a qualidade dos produtos têm aumentado consideravelmente nos últimos anos. A cultura está presente em todo o território nacional, com destaque para o Rio Grande do Sul, Pernambuco e Bahia, São Paulo e Paraná, se mostrando uma alternativa de geração de renda e de melhoria da qualidade de vida principalmente para os pequenos produtores rurais.

Sabe-se que é crescente a exigência, em todos os setores agrícolas, por produtos de qualidade, produzidos a partir de sistemas que visam uma maior proteção do meio ambiente e dos recursos naturais e a redução do uso de agroquímicos. Neste contexto, destacam-se os óleos essenciais como uma alternativa viável para o controle de doenças de plantas.

Os dados obtidos nesse trabalho mostram resultados promissores dos óleos essenciais de canela, eucalipto globulus e tomilho branco sobre o patógeno *Plasmopara viticola*. Ressaltam-se os resultados semelhantes observados *in vitro* e *in vivo*, onde foi constatada para todos os óleos essenciais e em todos os experimentos realizados, uma relação positiva entre a concentração dos óleos essenciais e o controle do míldio, sendo possível observar um maior controle do míldio à medida que a concentração do óleo essencial é aumentada. Verificou-se, porém, que na medida em que aumenta o período de incubação ou o intervalo entre a aplicação dos produtos e a inoculação de esporos, há uma redução no controle do míldio para todos os óleos essenciais testados.

Este estudo aponta que os óleos essenciais podem se constituir em mais uma opção para o controle do míldio da videira, porém merecem mais estudos, principalmente no que diz respeito à estabilidade química e o custo/benefício da utilização destes produtos.