

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E
BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE
FOLHAS DE GOIABEIRA SOBRE A
LAGARTA-DO-CARTUCHO DO MILHO**

RAFAELA KARIN LIMA

2006

RAFAELA KARIN LIMA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E BIOATIVIDADE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE FOLHAS DE GOIABEIRA SOBRE A LAGARTA-DO-
CARTUCHO DO MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Agroquímica e Agrobioquímica, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Custódio Donizete dos Santos

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Lima, Rafaela Karin

Caracterização química e bioatividade do óleo essencial de folhas de goiabeira sobre a lagarta-do-cartucho do milho / Rafaela Karin Lima. – Lavras : UFLA, 2006.

57 p. : il.

Orientador: Custódio Donizete dos Santos

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Óleo essencial. 2. Goiabeira. 3. Lagarta do cartucho do milho. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-630.24

-633.15978

RAFAELA KARIN LIMA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E BIOATIVIDADE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE FOLHAS DE GOIABEIRA SOBRE A LAGARTA-DO-
CARTUCHO DO MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Agroquímica e Agrobioquímica, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2006

Profa. Dra. Celeste Maria Pattto de Abreu UFLA

Prof. Dr. Jair Campos de Moraes UFLA

Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso UFLA

Prof. Dr. Custódio Donizete dos Santos
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais, Sebastião e Mirian, pelo exemplo de perseverança e luta em busca dos sonhos. Serão eternamente a minha maior inspiração.

OFEREÇO

Aos meus irmãos, Igor, Dudu e Letícia, pelo companheirismo e pela amizade. Ao meu amor, Juninho, pela confiança, paciência e, principalmente, pela força.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao professor Custódio Donizete dos Santos, pela orientação, confiança e entusiasmo, que permitiram a realização de um sonho, que foi este projeto.

À professora Maria das Graças Cardoso, pela orientação, amizade e por todo o aprendizado científico e moral que, com certeza, contribuíram muito para meu amadurecimento.

Ao professor Jair Campos de Moraes, pela orientação, disposição e por todos os ensinamentos na área de Entomologia.

À professora Celeste Maria Patto de Abreu, pela compreensão, amizade e pelos ensinamentos que me fizeram uma pessoa melhor.

Ao professor Mario César Guerreiro, pela ajuda na condução dos experimentos e, principalmente, pelos preciosos ensinamentos e pela amizade nas horas difíceis.

Aos colegas do Laboratório de Orgânica, pela cooperação em toda a realização deste projeto, especialmente aos colegas de iniciação científica que não mediram esforços: Milene, Juliana, Alcilene, Lidiane, Luis, Luciene, Luciana, Fabiane, Fernando e Jean, pela amizade. E aos meus colegas de turma, Maraísa, Cláudia, Aline, Vanisse e Denise, pelo companheirismo.

Ao professor Evaristo Mauro de Castro, pela ajuda com a identificação e análise da anatomia das folhas de goiabeira.

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica, pela cooperação. Principalmente a Xulita e a Irene, pela ajuda na condução do experimento.

Ao professor Evandro Afonso Nascimento, um exemplo de pesquisador que, desde a graduação, me inspirou e me ajudou a realizar este projeto. Agradeço pela ajuda com as análises cromatográficas dos óleos, pelos ensinamentos e pela amizade.

À Danila, pela ajuda na condução de toda a parte do experimento no Laboratório de Manejo de Pragas, pelos conhecimentos transmitidos e amizade. Serei sempre muito grata.

Às secretarias Miriam e Lilian, do Departamento de Química, que sempre estavam dispostas a ajudar.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS.....	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Goiabeira <i>Psidium guajava</i> L.....	3
2.1.1 Aspectos gerais da cultura.....	3
2.1.2 Anatomia e morfologia.....	3
2.1.3 Importância e uso das folhas de goiabeira.....	4
2.2 Óleo essencial.....	5
2.2.1 Constituição.....	5
2.2.2 Biossíntese e caracterização	6
2.2.3 Extração.....	9
2.3 Plantas inseticidas.....	10
2.4 Óleos essenciais inseticidas.....	15
2.5 Resistência de plantas a insetos.....	20
2.6 Lagarta do cartucho-do-milho <i>Spodoptera Frugiperda</i>	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Óleo essencial.....	24
3.1.1 Material vegetal.....	24
3.1.2 Extração.....	24
3.1.3 Identificação dos constituintes.....	25
3.2 Bioatividade do óleo essencial.....	25

3.2.1 Preparo dos tratamentos.....	25
3.2.2 Criação da <i>S. Frugiperda</i>	26
3.2.3 Teste de preferência com chance de escolha.....	26
3.2.4 Teste de preferência sem chance de escolha.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1 Caracterização e identificação dos óleos essenciais.....	28
4.2 Bioatividade do óleo essencial.....	45
4.2.1 Teste de preferência com chance de escolha.....	45
4.2.2 Teste de preferência sem chance de escolha.....	46
5 CONCLUSÃO.....	48
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Biossíntese de terpenos.....	8
FIGURA 2.	Biossíntese de fenilpropanóides.....	9
FIGURA 3.	Estrutura química de alcalóides extraídos das folhas de fumo	10
FIGURA 4.	Estrutura química da rotenona.....	11
FIGURA 5.	Estrutura química azadirachtina.....	12
FIGURA 6.	Estrutura química da rocaglamida.....	14
FIGURA 7.	Estrutura química isopsolareno e psolareno	14
FIGURA 8.	Estrutura química do α e β -pineno.....	15
FIGURA 9.	Estrutura química do precoceno I e II.....	16
FIGURA 10.	Estrutura química do timol e carvacrol.....	17
FIGURA 11.	Estrutura química do citronelal, 1,8 cineol, L-mentol.....	18
FIGURA 12.	Estrutura química do eugenol e aldeído cinâmico.....	19
FIGURA 13.	Estrutura química do cimol.....	19
FIGURA 14.	Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira 'Pedro Sato'.....	29
FIGURA 15.	a) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 13,208 minutos; b) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do 1,8 cineol.....	31
FIGURA 16.	Estrutura química do β -cariofileno.....	32
FIGURA 17.	A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 31,994 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do β -cariofileno.....	32
FIGURA 18.	Estrutura química do óxido de cariofileno.....	33

FIGURA 19.	A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 39,170 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do óxido de cariofileno.....	34
FIGURA 20.	Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira 'Paluma'	35
FIGURA 21.	Estrutura química do α -terpineol.....	36
FIGURA 22.	A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 20,806 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do α -terpineol.....	36
FIGURA 23.	Fragmentação do α -terpineol, levando à formação do fragmento m/z 59.....	37
FIGURA 24.	Estrutura química do trans-nerolidol.....	38
FIGURA 25.	A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 37,779 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do trans-nerolidol.....	38
FIGURA 26.	Fragmentação do trans-nerolidol, levando à formação do fragmento m/z 69.....	39
FIGURA 27.	Fragmentação do trans-nerolidol, levando à formação do fragmento m/z 93.....	39
FIGURA 28.	Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira silvestre.....	40
FIGURA 29.	Estrutura química do dl- limoneno.....	41
FIGURA 30.	A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 13,117 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do dl- limoneno.....	42
FIGURA 31.	Fragmentação do pico-base do dl-limoneno.....	42

FIGURA 32.	Fragmentação do dl-limoneno, levando a formação do fragmento m/z 93.....	43
FIGURA 33.	Estrutura química do selin-11-en-4- α -ol.....	44
FIGURA 34.	A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 42,148 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do selin-11-en-4- α -ol.....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Substâncias encontradas nos diferentes óleos essenciais de folhas de goiabeira <i>P. guajava</i> e sua abundância (%).....	28
TABELA 2.	Compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’	30
TABELA 3.	Compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de goiabeira ‘Paluma’	35
TABELA 4.	Compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de goiabeira silvestre.....	41
TABELA 5.	Número médio de lagartas <i>S. frugiperda</i> em secções de milho tratadas com o óleo essencial (O.E.) de folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’	45
TABELA 6.	Média de mortalidade e consumo alimentar de lagartas <i>S. frugiperda</i> em secções de milho tratadas com óleo essencial (O.E.) de folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’	46

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

IPP	isopentenilpirofosfato
HMG-CoA	3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA
NADPH	nicotinamina adenina dinucleotídeo fosfato
fAL	fenilalanina amonililase
CG	cromatografia gasosa
EM	espectrômetro de massas
CV	coeficiente de variação
DL ₅₀	dose letal para a mortalidade de 50%
Rt	tempo de retenção
m/z	massa/carga
[M ⁺]	íon molecular

RESUMO

LIMA, Rafaela Karin. **Caracterização química e bioatividade do óleo essencial de goiabeira sobre a lagarta-do-cartucho do milho**, 2006. 57 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agroquímica e Agrobioquímica) Universidade Federal de Lavras, MG*.

Os óleos essenciais de folhas de goiabeira *Psidium guajava* L. de diferentes cultivares (Paluma e Pedro Sato) e da planta silvestre foram analisados visando comparar os seus constituintes. A bioatividade do óleo essencial 'Pedro Sato' também foi avaliada sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda*. Para a caracterização e a identificação dos óleos, foi utilizada a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. Os resultados mostraram que os três óleos essenciais analisados apresentam inúmeras substâncias em comum com a predominância do 1,8-cineol. O óleo essencial 'Paluma' difere dos demais devido à maior concentração desta substância e do α -terpineol e o óleo da planta silvestre devido à presença do dl-limoneno e do selin-11-en-4- α -ol. A avaliação do efeito do óleo essencial 'Pedro Sato' foi realizada por meio da imersão de folhas de milho em quatro tratamentos, dois com óleo na concentração de 0,01% e 0,001% em etanol/água 1:1, e duas testemunhas, uma com água e outra com etanol/água. Foi realizado o teste com chance de escolha para avaliar o efeito de preferência da lagarta e o teste sem chance de escolha com o intuito de avaliar a mortalidade e o consumo alimentar. O óleo essencial de folhas de goiabeira 'Pedro Sato' foi inseticida repelente/deterrente para a lagarta *S. frugiperda*, na concentração de 0,01%.

* Comitê orientador: Dr. Custódio Donizete dos Santos – UFLA (Orientador), Dra. Maria das Graças Cardoso - UFLA e Dr. Jair Campos de Moraes - UFLA

ABSTRACT

LIMA, Rafaela Karin. **Chemical characterization and bioactivity of the essential guava tree oil upon fall armyworm**, 2006. 57 p. Dissertation (Master in Agronomy/Agrochemistry and Agrobiochemistry) Federal University of Lavras, MG* .

The essential oils of leaves of guava tree *Psidium guajava* L. of different cultivars (Paluma and Pedro Sato) and of the wild plant were analyzed aiming to compare their constituents. The bioactivity of the essential oil 'Pedro Sato' was also evaluated on the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. For the characterization and identification of the oils, Gas Chromatography - Mass were used to identify the constituents of the essential oils. The results showed that the three essential oils analyzed presented a number of substances in common with the predominance of 1,8-cineol. The essential oil 'Paluma' differs from the others due to the greatest concentration of this substance and of α -terpineol and the oil of the wild plant owing to the presence of dl-limonene and of selin-11-en-4- α -ol. The evaluation of the effect of the essential oil 'Pedro Sato' was accomplished by means of the immersion of corn leaves in four treatments, two with oil at the concentration of 0.01% and 0.001% in ethanol/water 1:1 and two controls, one with water and the other with ethanol/water. The test with choice chance was performed to evaluate the preference effect of the armyworm and the test without a choice chance with the aim of evaluating mortality and feed consumption. The essential oil of leaves of guava tree 'Pedro Sato' was repellent/deterrent insecticide for the armyworm *S. frugiperda* at the concentration of 0.01%.

* Guidance Committee: Dr. Custódio Donizete dos Santos – UFLA (Adviser), Dra. Maria das Graças Cardoso - UFLA and Dr. Jair Campos de Moraes - UFLA

1 INTRODUÇÃO

Desde a Antiguidade, o homem utiliza plantas para a cura de doenças, para o controle de insetos e para a conservação de corpos, descobertas que ocorreram por acaso e que, atualmente, estão sendo comprovadas pela ciência.

Em toda a parte da planta podem ser encontrados princípios ativos importantes, sintetizados pelo metabolismo secundário das plantas e que dão origem a uma série de substâncias conhecidas como alcalóides, flavonóides, cumarinas, saponinas e óleos essenciais, entre outras.

Uma das classes mais importante é a dos óleos essenciais, que são compostos voláteis e, quando liberados pelas plantas, agem como sinais químicos para a comunicação entre espécies, na proteção contra microorganismos, herbívoros e intempéries ambientais.

O óleo essencial de folha de goiabeira (*Psidium guajava* L.) se destaca por apresentar em sua composição substâncias majoritárias que são consideradas inseticidas, como o 1,8-cineol, causando vários efeitos sobre os insetos, como o de repelência e até mesmo mortalidade.

O estudo de plantas inseticidas para o controle de pragas tem se desenvolvido muito e o emprego de substâncias inseticidas extraídas de plantas tem inúmeras vantagens, quando comparado com o uso de sintéticos como a baixa toxicidade ao meio ambiente e o por serem ponto de partida para a síntese de novos produtos.

O uso de inseticidas na agricultura se faz necessário devido à grande demanda por alimentos, em função do crescimento populacional, que gera também um aumento populacional dos insetos-praga. Além disso, estes princípios ativos, com o passar do tempo, tornam-se ineficazes, ocasionando uma busca contínua por novas moléculas com propriedades inseticidas.

Assim, no presente trabalho objetivou-se analisar a composição química do óleo essencial de folhas de goiabeira de diferentes cultivares ‘Pedro Sato’ e ‘Paluma’ e da planta silvestre e também seus efeitos no comportamento e ou mortalidade da lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Goiabeira *Psidium guajava* L.

2.1.1 Aspectos gerais da cultura

A goiabeira faz parte da família das Myrtaceae e tem como origem regiões tropicais da América Central e América do Sul (Pereira, 1995). Nessas regiões, são encontradas, aproximadamente 3.024 espécies conhecidas, distribuídas e cultivadas principalmente em países de clima tropical e subtropical. No gênero *Psidium*, a que mais se destaca é a goiabeira, classificada como *Psidium guajava* L. (Accorsi et al., 1960; Manica et al., 2000).

No ano de 2004, o Brasil foi considerado o maior produtor mundial de goiabas vermelhas e o terceiro maior produtor de frutas, de acordo com dados do IBGE (Francisco et al., 2005). A produção se concentra na regiões Sudeste e Nordeste, sendo São Paulo e Pernambuco os maiores produtores. No estado de São Paulo, as variedades mais produzidas são ‘Kumagai’, ‘Pedro Sato’ e ‘Sassaoka’ (Gutierrez et al., 2002).

2.1.2 Anatomia e morfologia

A goiabeira tem um sistema radicular em que predomina a raiz principal com crescimento inicial muito intenso e normalmente superior ao das raízes secundárias, laterais e ramificadas. Seu sistema radicular pode atingir as camadas mais profundas do solo, tendo influência direta na sua atividade de retirar água e suprir as necessidades da planta, principalmente em períodos de seca (Manica et al., 2000).

É uma árvore com porte que varia de pequeno a médio, tortuosa, atingindo de 8 a 9 m de altura. Apresenta a casca lisa, delgada, castanha-arroxeadada e, quando envelhece, desprende-se em lâminas. Suas folhas são verde-amareladas,

grossas e se dispõem em posição horizontal ou oblíqua recebendo maior intensidade de luz. A morfologia foliar revelou que suas folhas são hipostomáticas, havendo ocorrência de um grande número de tricomas e glândulas oleíferas (Manica et al., 2000, Lorenzi & Matos, 2002).

2.1.3 Importância e uso das folhas de goiabeira

O chá de suas folhas é popularmente conhecido, sendo utilizado contra cólica e diarreias, tendo inúmeros estudos a esse respeito (Almeida et al., 1995; Lozoya et al., 2002; Lutterodt, 1989). A análise fitoquímica das folhas revelou a presença de aminoácidos, triterpenos e esteróides, ácidos, fenóis e saponinas (Cuellar et al., 1984) e de importantes carotenóides (Mercadante et al., 1999).

Os extratos das folhas apresentam inúmeras atividades, tais como a antimicrobiana em vários microrganismos, como *Candida albicans*, e contra algumas bactérias como *Staphylococcus aureus* (Nascimento et al., 2000). Possuem também poder antioxidante devido à presença de vitaminas, carotenóides polifenóis e, principalmente, de ácido ascórbico (Nogueira et al., 1978; Qian et al., 2004).

Nas folhas também foram encontrados ácidos voláteis, (E)-ácido cinâmico e (Z)-3-ácido hexenóico (Idstein et al., 1985) e ácidos graxos (Opute, 1978).

No óleo essencial foram encontrados vários compostos como α -pineno, p-menten-9-ol, trans-cariofileno, β -bisaboleno, α -humuleno, α -santaleno, d-limoneno, óxido de cariofileno, eugenol, mirceno, β -bisaboleno, aromadendreno, β -selineno e 1,8-cineol (Craveiro et al., 1981; Cuellar et al., 1984; Pino et al., 2001).

2.2 Óleo essencial

2.2.1 Constituição

Óleos essenciais são compostos voláteis obtidos de diversas partes de plantas por meio de destilação, utilizando-se a técnica de arraste a vapor d'água ou por prensagem de pericarpos de frutos cítricos. Em sua maioria são constituídos de derivados de fenilpropanóides e de terpenóides, prevalecendo os últimos com cerca de 90%. Apresentam, normalmente, um ou dois compostos majoritários na sua constituição. São produzidos no metabolismo secundário das plantas, variando a intensidade e a composição de acordo com a espécie e fatores ambientais, geralmente específicos para um determinado órgão e característico para o estágio de desenvolvimento da mesma. Podem ser encontrados em pêlos glandulares (Lamainaceae), canais oleíferos (Apiaceae), bolsas lisígenas ou esquisolisígenas (Pinaceae, Rutaceae) e células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae), e podem estar presentes em diferentes órgãos da planta, como flores, caules, raízes, frutos e folhas, entre outros (Simões & Spitzer, 2004).

Lima et al. (2003), avaliando a influência de fatores abióticos na produção de terpenóides, constataram que a baixa intensidade luminosa diminuiu a produção de monoterpenos. Também concluíram que pequenas variações diárias de temperaturas estimularam a produção de terpenóides, enquanto que valores extremos causaram sua redução e o aumento do teor de nitrogênio e fósforo no solo favoreceram um maior rendimento.

Castro et al. (2004), analisando cinco acessos de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) em localidades diferentes do estado de Minas Gerais, nas mesmas condições de cultivo, observaram que houve uma diferença significativa na quantidade e na composição do óleo essencial estudado. Atribuíram o fato a vários fatores, como constituição genética das plantas que influenciam na

produção de determinados metabólicos, época de colheita, idade da planta, horário do dia da coleta, variedades das espécies, condições climáticas e de solo.

Santos et al. (2004), pesquisando tecidos foliares de pindaíba (*Xylopia brasiliensis* S.) da família Annonaceae, observaram a ocorrência de uma cavidade secretora de óleo no mesófilo.

2.2.2 Biossíntese e caracterização

As plantas possuem dois tipos de metabolismo. O primário, constitui na formação das principais macromoléculas, isto é, das proteínas, dos carboidratos, lipídeos e ácidos nucléicos. O metabolismo secundário produz múltiplos compostos que não são considerados essenciais, porém, garantem vantagem para a sobrevivência da planta. Esses metabólicos têm, principalmente, função de atração e de defesa (Santos, 2004).

O metabolismo secundário dá origem aos compostos por meio de dois metabólitos intermediários que são derivados da glicose, o ácido chiquímico e o acetato. O ácido chiquímico é derivado de dois metabólitos da glicose, do fosfoenolpiruvato e da eritrose-4-fosfato por condensação aldólica, sendo o ácido chiquímico precursor de taninos hidrolisáveis, cumarinas, alcalóides que são derivados dos aminoácidos aromáticos ou de fenilpropanóides. Os derivados do acetato são aminoácidos alifáticos e os alcalóides derivados dele, terpenóides, esteróides, ácidos graxos e triglicerídeos (Robbers et al., 1997; Santos, 2004).

Os constituintes dos óleos essenciais são agrupados em duas classes quimicamente distintas: terpenóides e fenilpropanóides. Os terpenóides são constituídos de duas ou mais moléculas de isopreno e ocorrem de forma mais abundante nas espécies produtoras de óleo essencial, sendo mais freqüente os monoterpenos (cerca de 90% dos óleos essenciais) e sesquiterpenos (Simões & Sptizer, 2004). Portanto, a biossíntese destes compostos é mais estudada.

Deschamps (2005) estudou o acúmulo de metilchavicol em tricomas

glandulares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e observou que houve diminuição deste composto com a idade do tecido foliar e sua relação com a enzima específica que atuava em sua síntese. Sabendo que as rotas biossintéticas, a estocagem, a degradação e o transporte são controladas por genes, seu estudo foi de extrema importância, permitindo assim o conhecimento das enzimas e de fatores regulatórios, uma vez que estas ainda são pouco estudadas.

Os terpenóides são sintetizados via mevalonato no citoplasma, o qual é formado por condensação de uma unidade da acetoacetyl-CoA com a acetyl-CoA, seguida de uma hidrólise, formando o 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Em seguida, o HMG-CoA é reduzido por um processo que depende de NADPH e é catalisado pela HMGCoA-redutase a mevalonato que, por sua vez, é convertido em isopentenil-pirofosfato (IPP) e seu isômero dimetilalilpirofosfato (DMAPP). O IPP e o DMAPP condensam-se formando o trans-geranilpirofosfato, que dará origem aos monoterpenos e sesquiterpenos. Com a polimerização, são formadas cadeias crescentes de cinco em cinco átomos de carbono, conforme a Figura 1 (Santos, 2004).

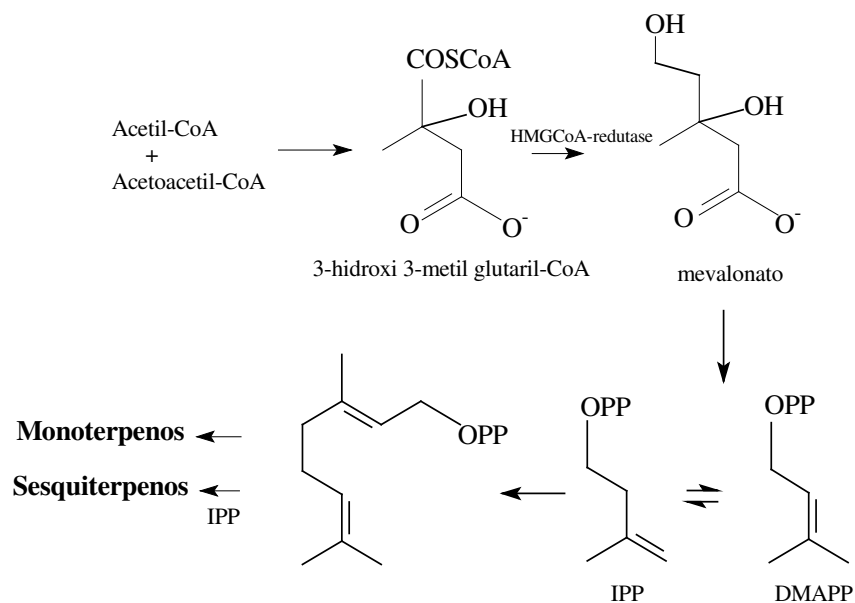


FIGURA 1. Biossíntese de terpenos.

Os fenilpropanóides são derivados da rota que inicia com a formação do ácido chiquímico, dando origem à fenilalanina e a tirosina que, por sua vez, com a ação da enzima fenilalanina amonialiase (FAL), perde uma molécula de amônia resultando na formação dos ácidos cinâmico e *p*-cumárico, respectivamente (Figura 2). Portanto, por meio de várias reações são formados os fenilpropanóides, tais como eugenol e aldeído cinâmico, entre outros (Robbers et al., 1997).

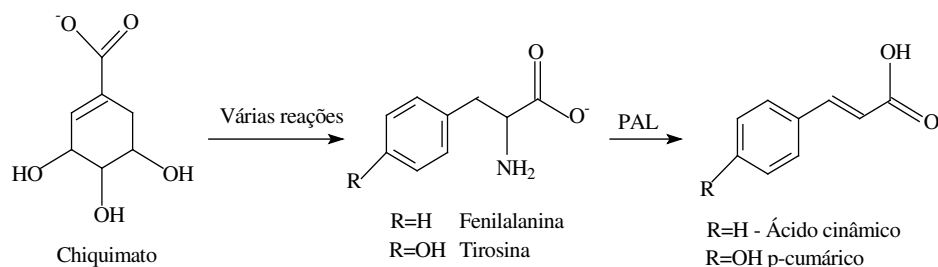


FIGURA 2. Biossíntese de fenilpropanóides

2.2.3 Extração

Com o aumento de pesquisas com óleos essenciais, muitas técnicas de extração e identificação estão sendo cada vez mais aperfeiçoadas.

Para a obtenção dos óleos essenciais, a hidrodestilação é a técnica mais utilizada, porém, os compostos termosensíveis podem degradados por ela. Na técnica de extração com solvente orgânico, o óleo obtido é impuro devido à presença de ácidos graxos e outros compostos que são solúveis no solvente, necessitando de aquecimento para a separação. A extração por fluidos supercríticos está ganhando cada vez mais espaço no meio científico, tendo a vantagem de utilizar baixa temperatura e a possibilidade de ser aplicado em líquidos altamente viscosos e, ainda, por não existir resíduo de solventes. Outra técnica analítica importante para a extração de óleos e substâncias voláteis é a técnica de microextração em fase sólida, na qual os componentes voláteis são depositados em uma agulha com material adsorvente e, em seguida, esta é inserida em um cromatografo gasoso, tendo como principal vantagem a pequena quantidade de material necessário para a análise (Sant'ana & Stein, 2001, Simões & Spitzer, 2004).

2.3 Plantas inseticidas

Atualmente, os inseticidas naturais têm sido cada vez mais requisitados. Os inseticidas naturais apresentam inúmeras vantagens quando comparados ao emprego de inseticidas sintéticos. Por exemplo, são obtidos de recursos renováveis e são rapidamente degradados, não deixando resíduos em alimentos e no meio ambiente. O desenvolvimento destes compostos requer tempo e também um estudo sistematizado que preencha requisitos, tais como seletividade contra inimigos naturais, baixa toxicidade em mamíferos, biodegradabilidade e ausência de fitotoxicidade, além dos requisitos econômicos para que sua produção em alta escala seja viável (Vieira et al., 2001).

O uso do fumo *Nicotiana tabacum* L., da família Solanaceae, é bastante conhecido como inseticida, sendo os alcalóides nicotina, nornicotina e anabasina os principais princípios ativos extraídos de suas folhas (Figura 3) (Gallo et al., 2002; Vieira et al., 2004).

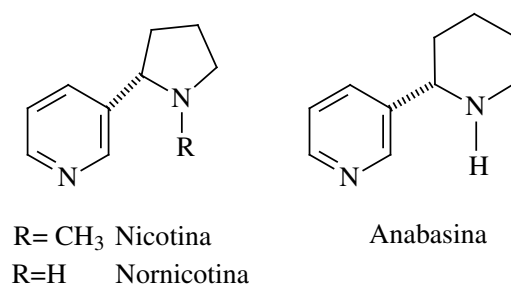


FIGURA 3 – Estrutura química dos alcalóides extraídos das folhas de fumo

A rotenona (Figura 4) ocorre em leguminosas, nos gêneros *Derris*, *Lonchocarpus* e *Tephrosia* e apresenta larga atividade inseticida, porém, sofre

inatividade via degradação fotoquímica em condições de campo. Os principais análogos sintéticos são a eliptona, a deguelina e a munduserona. Os rotenóides podem atuar tanto por ingestão, devido ao seu potencial fagoinibidor e por contato (Vieira et al., 2004).

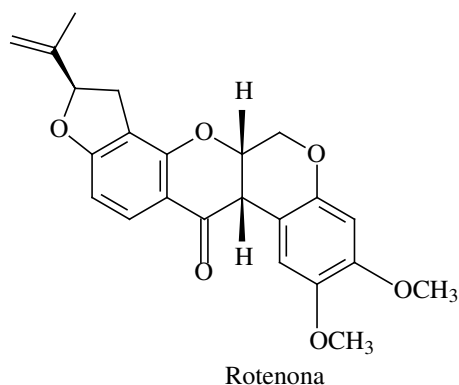


FIGURA 4. Estrutura química da rotenona

Um dos grupos de substâncias conhecidas e ainda utilizado como inseticidas é a dos piretróides, originalmente extraídos de flores de crisântemos da família Asteraceae. A grande vantagem de sua utilização é a sua baixa toxicidade a mamíferos e da alta toxicidade a insetos. Dentre os principais análogos estão os sintéticos ciclopropânicos deltametrina, fenvalerato e esfevalerato (Vieira et al., 2001).

Dentre os terpenóides que apresentam atividade inseticida, encontram-se os tetranortriterpenos conhecidos como limonóides e são os maiores representantes desta classe de compostos inseticidas. Podem ser encontrados na

família Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae (Vieira et al., 2001; Vieira et al., 2004).

Dentro da família Meliaceae, destaca-se a *Azadirachta indica* A., conhecida por “nim”, que é considerada uma das mais importantes devido á sua atividade sistêmica, eficiência em baixas concentrações e baixa toxicidade a mamíferos (Gallo et al., 2002). O principal composto extraído dos frutos desta planta é a azadirachtina (Figura 5), um limonóide que atua interferindo no funcionamento de glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos e também apresenta propriedade fago-inibidora (Vieira et al., 2001).

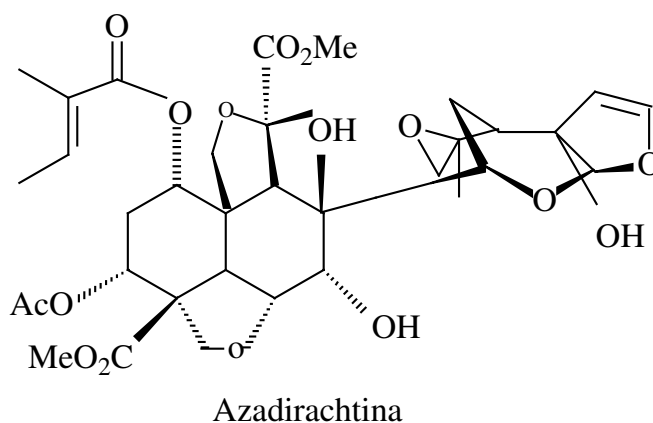


FIGURA 5. Estrutura química da azadirachtina

Gonçalves et al. (2001), utilizando o extrato de *A. indica* na concentração de 2,5% e 5%, respectivamente, constataram a mortalidade de 97,5% e 100% de fêmeas do ácaro-verde da mandioca *Mononychellus tanajoa* (B.).

No Brasil, a planta conhecida como cinamomo (*Melia azedarach* L.) ou Santa Bárbara, também da família Meliaceae, é bastante estudada. Brunherotto & Vendramim (2001) verificaram a eficiência de extratos aquosos de cinamomo e observaram redução da sobrevivência larval da traça do tomateiro *Tuta absoluta* (M.), quando estas foram alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com extratos aquosos de várias partes deste vegetal. Os autores observaram que o extrato das folhas apresentou a maior bioatividade.

Outras meliáceas promissoras que revelaram eficiência no controle de diversas espécies de insetos são as do gênero *Trichilia*, sendo o limonóide triquilina seu principal composto (Morais et al., 1981). Thomazini et al. (2000) testaram extratos aquosos de ramos e folhas de *Trichilia pallida* S. sobre a traça-do-tomateiro *T. absoluta*, e constataram que os extratos de folhas e de ramos prejudicam o desenvolvimento do inseto, afetando, principalmente, a fase larval.

As rocaglamidas fazem parte de uma classe de substâncias com potente atividade inseticida, as quais podem ser encontradas em espécies do gênero *Aglai* (Meliaceae). Muitos outros análogos derivados da rocaglamida (Figura 6) já foram isolados e apresentam atividade inseticida (Nugroho et al., 1997).

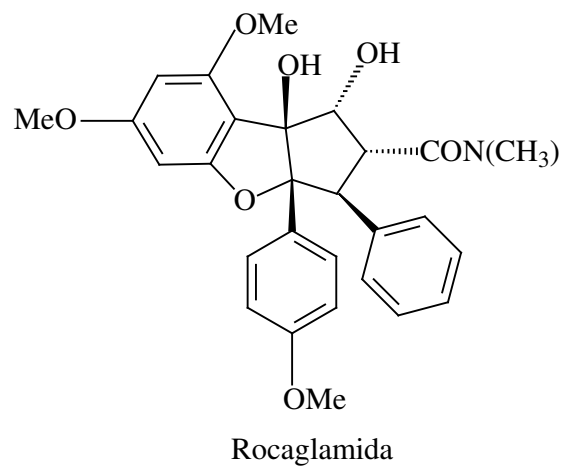


FIGURA 6. Estrutura química da rocaglamida

As furanocumarinas são encontradas em plantas das famílias Rutaceae e Apiaceae, podendo agir de várias formas como inseticidas. São representantes desta classe o isopsoraleno (furanocumarina angular) e o psoraleno (furanocumarina linear) (Figura7) (Vieira et al., 2004).

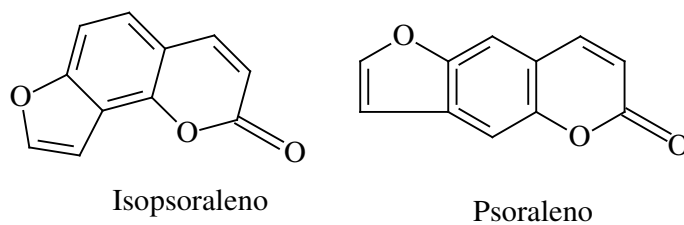


FIGURA 7. Estrutura química do isopsolareno e psolareno

2.4 Óleos essenciais inseticidas

Em muitas plantas são encontradas substâncias com potencial inseticida ou repelente, as quais são geralmente voláteis e podem ser detectadas pelas antenas ou tarsos de insetos. Entre essas, estão os monoterpenos (citronelal, linalol, mentol, α e β -pinenos, mentona, carvona e limoneno), os sesquiterpenos (farnesol, nerolidol), os fenilpropanóides (safrol, eugenol) e muitos outros compostos químicos (Panizzi & Para, 1991; Simões & Sptizer, 2004).

Os monoterpenos α e β -pineno (Figura 8) estão presentes no óleo volátil extraído da resina de pinheiro *Pinus sylvestris* L., armazenado pela larva da vespa *Neodiprion* (Hymenoptera). Quando a lagarta é atacada por um predador, estas substâncias são liberadas, causando repelência e fazendo com que ele desista do ataque (Harbone, 1993).

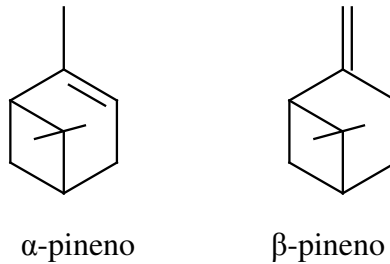


FIGURA 8. Estrutura química do α e β -pineno

O óleo essencial das folhas de louro, *Laurus nobilis* L., foi testado contra baratas *Periplaneta americana* (L.), por Machado et al. (1995). Estes autores observaram que este óleo essencial foi repelente, porém não tóxico.

Oliveira et al. (1999) realizaram um estudo com pós e óleo essencial de folhas de louro (*L. nobilis*), canela (*Cinnamomum zeylanicum* N.) e óleo de sementes de nim (*A. indica*), testados em adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) em sementes de feijão. Constataram que o maior índice de repelência foi para os óleos essenciais das folhas de canela, com 96,2%, na dose de 5,0 mL/kg e das folhas de louro, com 74,6%, na dose de 2,5 mL/kg. Seus respectivos pós foram menos eficientes que os óleos essenciais.

Bowers et al. (1976), estudando a composição química e a atividade inseticida do óleo essencial de mentrasto (*A. conyzoides*), observaram que este era o responsável pela metamorfose prematura dos insetos. Concluíram que as substâncias precoceno I e precoceno II (Figura 9) da classe cromenos foram responsáveis por esta atividade. Bouda et al. (2001), utilizando o mesmo óleo essencial em *Sitophilu zeamais* Motsh., observaram que este apresentou potencial inseticida, causando mortalidade em 24 horas, com a dose letal (DL₅₀) igual a 0,9%.

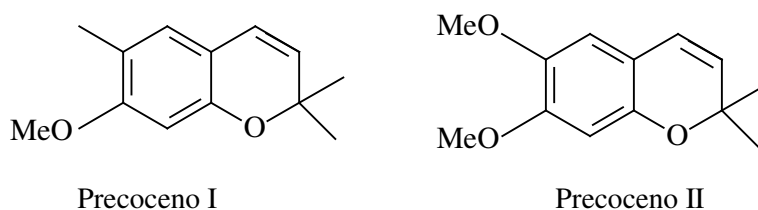


FIGURA 9. Estrutura química do precoceno I e II

Nesta mesma época, Isman et al. (2001) testaram óleos essenciais de vinte plantas para a largata-do-tabaco, *Spodoptera litura*. Observaram que o óleo de *Satureia hortensis*, *Thymus serpyllum* e *Origanum creticum* causaram mais

de 90% da mortalidade larval e atribuíram esta atividade à presença dos monoterpenóides fenólicos, timol e carvacrol (Figura 10), constituintes majoritários do óleo de *S. hortensis*, *T. serpyllum*.

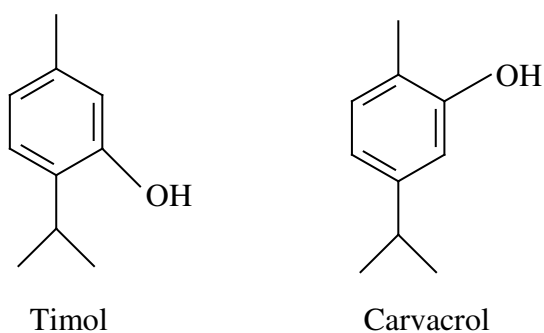


FIGURA 10. Estrutura química do timol e carvacrol

O citronelal (Figura 11) pode ser encontrado em várias plantas como capim-citronela (*Cymbopogon nardus* R.) e em espécies de eucalipto, principalmente em *Eucalyptus citriodora* H. Pesquisas de Penteadó (1999) recomendam o óleo de eucalipto no controle de pragas de produtos armazenados, como *Tribolium castaneum* (Herbs) e *S. zeamais*. Segundo este, o citronelal e o 1,8-cineol (Figura 11) são responsáveis por este processo biológico.

Pesquisas realizadas por Agarwal et al. (2001) comprovaram a atividade inseticida do e L-mentol (Figura 11) contra *T. castaneum* com DL₅₀ igual a 108,4 ppm.

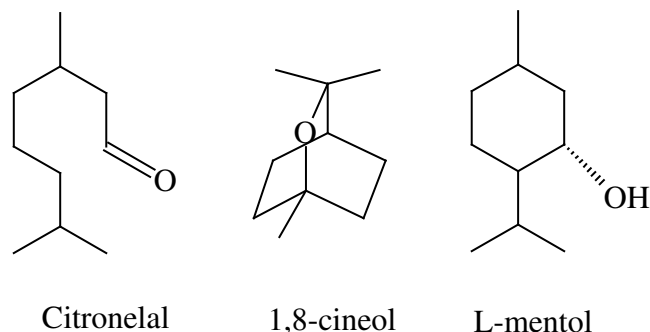


FIGURA 11. Estrutura química do citronelal, 1,8 cineol e L-mentol

Huang et al. (2002) testaram o eugenol, o isoeugenol e o metileugenol sintéticos contra o *S. zeamais* e *T. castaneum*. Constataram que a dose letal foi similar para todos os compostos na dose (DL₅₀) de 30 ppm para o *S. zeamais*. O potencial dos componentes comparados por DL₅₀ foi isoeugenol > eugenol > metileugenol para o *T. castaneum*.

O óleo essencial de cravo da índia (*Eugenia caryophyllus* T.) tem como principal constituinte o eugenol. O aldeído cinâmico e o eugenol (Figura 12), quando isolados das folhas de *Cinnamomum osmophloeum*, mostraram repelência contra cupins (*Coptotermes formosanus*). Trabalhos de Simas et al. (2004) demonstraram que plantas ricas em fenilpropanóides, como o eugenol, o aldeído cinâmico e o safrol, contribuem para o controle de larvas do mosquito da dengue *Aedes aegypti* L.

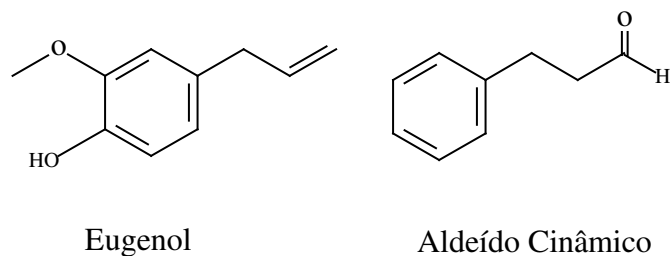


FIGURA 12. Estrutura química do eugenol e aldeído cinâmico

No óleo essencial extraído das folhas do *Eucalyptus saligna* S. e *Cupressus sempervirens* L., Tapondjou et al. (2005) isolaram os constituintes majoritários 4-terpineol, o cimol e o α -pineno. Consideraram o cimol (Figura 13) o principal constituinte responsável pela toxicidade e repelência para o *S. zeamais* e *T. confusum*. O óleo de *Eucalyptus* foi mais tóxico que o óleo de *Cupressus*, para ambas as espécies na DL_{50} igual a $0,36 \text{ ml/cm}^2$, para *S. zeamais* e $0,48 \text{ ml/cm}^2$ para *T. confusum*.

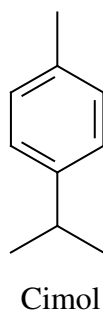


FIGURA 13. Estrutura química do cimol

Com a finalidade de testar a atividade inseticida de dois monoterpenos halogenados (mertenseno e violaceno) isolados da alga vermelha *Plocamium cartilagineum* L. contra a traça-do-tomate *T. absoluta* do pulgão-verde *Schizaphis graminum* (R.), Argandoña et al. (2000) observaram que houve uma grande toxicidade do violaceno para os pulgões, causando 92% de mortalidade em 48 horas na concentração de 100 e 250 ppm.

2.5 Resistência de plantas a insetos

As plantas podem apresentar três tipos de resistência, não-preferência (antixenose), antibiose e tolerância.

A não-preferência ocorre devido aos estímulos causados, principalmente, por aleloquímicos, mas também podem ser causados por barreira física, os quais vão depender dos fatores genéticos da planta. Os estímulos químicos podem causar vários efeitos, como o de repelência, que orienta o inseto na direção contrária da planta; o arrestante, que leva o inseto a cessar o movimento; o supressante que inibe o inseto a iniciar a alimentação ou oviposição e o deterrente, o qual impede que o inseto continue a se alimentar ou ovipositar. Os efeitos contrários (positivo) também podem ocorrer. A variação destes estímulos irá determinar se uma planta é mais resistente ou suscetível ao inseto. (Gallo et al., 2002).

A antibiose ocorre quando o inseto se alimenta da planta e esta exerce um efeito adverso sobre sua biologia, podendo causar mortalidade na fase imatura, alteração do tempo de vida, redução de tamanho, peso e fecundidade. Os metabólicos secundários podem causar esta resistência, como também antimetabólitos, enzimas e fitohormônios podem apresentar o mesmo efeito (Gallo et al., 2002).

As plantas resistentes por tolerância sofrem poucos danos em relação a outra cultivar; elas são capazes de suportar o ataque da praga sem que ocorra

redução na qualidade e quantidade de sua produção (Adair, 1998; Gallo et al., 2002).

A resistência pode ocorrer devido a diversas causas químicas (aleloquímicos), físicas (radiação eletromagnética) e morfológicas que estão relacionados às características da planta (disposição e dimensão das estruturas, estrutura da epiderme, tricomas), entre outros fatores (Gallo et al., 2002).

2.6 Lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda*

Uma das pragas de maior importância na cultura do milho é a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) que pertence à ordem Lepidoptera e família Noctuidae.

Os adultos põem cerca de dois mil ovos na parte superior da folhas e, após três dias, as lagartas eclodem e passam a se alimentar das folhas mais novas, sendo a duração do período larval de 12 a 30 dias. Sua coloração é escura e, com o passar do tempo, apresentam faixa dorsal com pontos pretos (pináculos) na base das cerdas. A cabeça é preta, com uma linha clara em forma de Y, nitidamente perceptível. A mariposa mede aproximadamente 35 mm de envergadura, com as asas anteriores pardo-escuras e posteriores branco-acinzentadas (Gallo et al., 2002).

É considerada a principal praga do milho no Brasil, atacando plantas jovens e reduzindo em até 34% a produção, dependendo da idade da planta (Valicente & Cruz, 1991). O cultivo no período “safrinha” oferece boas condições para o desenvolvimento dessa praga, devido à permanência de plantas na mesma área durante o ano todo (Farias et al., 2001). Esta lagarta ataca, além do milho, a cana-de-açúcar, o arroz e o algodoeiro (Gallo et al., 2002).

É comumente encontrada apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho devido ao canibalismo, podendo também encontrar lagartas de diferentes instares, porém separadas por lâminas das folhas. O período pupal acontece no

solo, com duração de 8 dias no verão e aproximadamente de 25 dias no inverno. As pupas são de coloração avermelhada, medindo cerca de 15 mm de comprimento (Gallo et al., 2002).

Dentre os principais métodos de controle da lagarta-do-cartucho estão o controle biológico e o químico com o uso de inseticidas sintéticos (fosforados, carbamatos e piretróides, entre outros), os quais são tóxicos ao homem e ao meio ambiente (Gallo et al., 2002).

Entretanto, com a seleção de populações de insetos resistentes, diminui cada vez mais a eficiência desses inseticidas. Assim, o uso de plantas inseticidas, na forma de óleo ou de extratos, se faz necessário, devido ao baixo impacto ambiental, sendo uma alternativa para o controle da lagarta-do-cartucho do milho (Labinas & Crocomo, 2002; Bogorni & Vendramim, 2003).

Vários extratos de plantas e óleos essenciais já foram testados sobre a *S. frugiperda*. Roel et al. (2000) testaram extratos de folhas e ramos de *T. pallida* no alimento da lagarta no 1º instar e constataram que todos apresentaram atividade tóxica, sendo maior para o extrato acetônico em relação ao metanólico, acetato de etílico e hexânico.

O óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* J.), rico em citronelal e citronelol, demonstrou ação inseticida e repelente para as lagartas (Labinas et al, 2002).

Viana & Prates (2003) analisaram o efeito do extrato aquoso de folhas de “nim” e constataram que, quando as folhas eram pulverizadas ou submergidas no extrato causavam elevada mortalidade prejudicando o desenvolvimento das mesmas.

Extratos aquosos de espécies de *Trichilia* ssp., quando testados nas folhas de milho, apresentaram bons resultados, demonstrando que os extratos de folhas de *T. pallens* e extratos de ramos de *T. pallida* são promissores para o controle da lagarta-do-cartucho do milho (Borgoni & Vendramim, 2003 e 2005).

A piperina faz parte do grupo das amidas lipofílicas insaturadas, tendo sido isolada pela primeira vez nas espécies de *Piper* e com atividade inseticida. A atividade das aminas análogas à piperina foi testada em *S. frugiperda*, tendo o N-isopropil sido o mais tóxico (Estrela et al., 2003).

Os óleos essenciais de mil-folhas e de tomilho apresentaram potencial inseticida para o manejo da lagarta-do-cartucho, porém, não foram ativos para o pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Castro, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Óleo essencial

3.1.1 Material vegetal

Foram utilizadas folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’, ‘Paluma’ e da goiabeira silvestre, todas coletadas na região de Lavras, MG. As coletas foram realizadas no período da manhã, em torno de 11 horas, no terço médio da planta, em dias ensolarados e ausentes de chuva, no período de maio e junho.

A exsicata destas plantas foi preparada e levada ao Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, para a confirmação de sua espécie, cujo número de registro é 20.207.

3.1.2 Extração

O processo de extração do óleo essencial foi realizado no Laboratório de Química Orgânica da Universidade Federal de Lavras. As folhas de goiabeira de cada cultivar, após terem sido coletadas, foram picadas e pesadas (300g). Os óleos essenciais foram obtidos pela técnica “arraste a vapor d’água”, utilizando-se um aparelho de Clevenger modificado (Craveiro, 1981). A extração foi realizada durante 2,5 horas. Coletou-se o hidrolato e separou-se a fase aquosa e orgânica (óleo essencial) por centrifugação. O óleo foi coletado com o auxílio de uma micropipeta, pesado e colocado em um frasco de vidro âmbar, devidamente limpo e envolto com papel alumínio.

O teste de umidade das folhas foi realizado simultaneamente com a extração. Foram utilizados 5g de folhas picadas, juntamente com 80 mL de ciclohexano, pelo método da 2b-42 (AOCS, 1994) adaptado por Pimentel et al.

(2006) para a obtenção da concentração de óleo na plantas seca em p/p. O teor de óleo foi calculado para a planta seca em triplicata.

3.1.3 Identificação dos constituintes

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Química de Produtos Naturais na Universidade Federal de Uberlândia. O óleo foi submetido à cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (EM), em equipamento Shimadzu, modelo CG 17A, com detector seletivo de massa, modelo QP 5000. A coluna cromatográfica utilizada foi do tipo capilar de sílica fundida com fase estacionária DB – 5, de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, utilizando hélio como gás carreador. As temperaturas foram de 220°C no injetor e 300°C no detector. A temperatura do forno foi programada de 60°C a 240°C, com acréscimo de 3°C a cada minutos. A identificação dos compostos foi feita por comparações entre os espectros de massas obtidos com os espectros existentes na biblioteca (Wiley 140) e pelo índice de Kovat.

3.2 Bioatividade do óleo essencial

3.2.1 Preparo dos tratamentos

O óleo essencial das folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’ foi o escolhido para este experimento, devido a sua maior disponibilidade na região. Os tratamentos foram preparados em etanol/água 1:1, nas concentrações 0,01% e 0,001%, com o auxílio de uma pipeta capilar e armazenado a 4°C em balão volumétrico envolto com papel alumínio (Traboulsi et al., 2002).

Foram utilizadas duas testemunhas, uma com etanol/água 1:1 e outra com apenas água, num total de quatro tratamentos, os quais foram preparados momentos antes da montagem dos testes.

3.2.2 Criação de *S. frugiperda*

A criação foi iniciada com pupas da lagarta-do-cartucho oriundas da criação do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As pupas foram inicialmente colocadas em gaiolas de PVC com 25 cm de altura e 20 cm de diâmetro, com a parede interior forrada com papel sulfite, tendo o formato de um cilindro aberto em ambas as extremidades. A extremidade superior foi coberta com um tecido tipo organza e a parte inferior apoiada em um prato plástico com 25 cm de diâmetro, forrado com papel de filtro, onde foram colocadas as pupas.

As posturas (conjunto de ovos) foram coletadas e colocadas em copos plásticos com capacidade de 50 mL contendo 5 gramas de dieta artificial à base de feijão e levedura (Kasten-Junior et al., 1978). O conjunto foi fechado com tampa acrílica. Três dias após a eclosão, as lagartas foram separadas duas a duas em copos plásticos, mantidas em câmara climatizada regulada a $25 \pm 20^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas.

3.2.3 Teste de preferência com chance de escolha

As folhas de milho foram coletadas pela manhã. As secções foliares foram recortadas com 5 cm de comprimento, lavadas e colocadas em um bequer com água e hipoclorito de sódio 10%, durante cinco minutos, enxaguadas com água destilada e colocadas sobre papel de filtro.

Após limpas, as secções foliares foram imersas nos tratamentos por cinco segundos e colocadas verticalmente durante dez minutos, para a retirada do excesso da solução.

Quatro secções foliares, correspondentes a cada um dos tratamentos, foram colocadas equidistantemente em placas de Petri de 19 cm de diâmetro, forradas com papel de filtro umedecido com água destilada. Em seguida, foram liberadas 20 lagartas de, no máximo, 24 horas (1º instar), no centro da placa, a

qual, posteriormente, foi vedada com filme plástico com pequenos furos para aeração.

As lagartas foram contadas em cada secção foliar, às 24 48 e 72 horas, após a liberação. O delineamento experimental foi em inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 10 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

3.2.4 Teste de preferência sem chance de escolha

Neste experimento utilizaram-se placas de Petri com 10 cm de diâmetro e secções foliares de milho com 8 cm de comprimento, preparadas conforme o item anterior. As secções foliares, após terem sido tratadas, foram divididas ao meio, sendo cada metade pesada e colocada individualmente nas placas (uma secção por placa) que estavam previamente forradas com papel de filtro umedecido com água destilada. Em seguida, sobre uma das metades das secções com os respectivos tratamentos foram liberadas 10 lagartas.

Foram avaliados a mortalidade e o consumo foliar às 48 e 96 horas, nas placas com as lagartas, pela contagem de lagartas vivas e pesagem das secções foliares, respectivamente.

As outras metades das secções foliares sem lagartas mantidas nas mesmas condições, também foram pesadas às 48 e 96 horas, visando determinar a variação da umidade, para o cálculo do consumo foliar. Após as primeiras 48 horas, as secções foliares foram trocadas por outras novas, que passaram pelo mesmo procedimento. Avaliou-se da mesma maneira, porém, mantendo as mesmas lagartas que estavam nas placas.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 4 tratamentos e 6 repetições. Os dados de mortalidade foram transformados em arco-seno $\sqrt{X/100}$, antes da análise.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização e identificação dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de folhas de goiabeira ‘Paluma’, ‘Pedro Sato’ e da planta silvestre caracterizados por CG-EM, apresentaram treze substâncias (Tabela 1) e o rendimento foi praticamente o mesmo para todas as cultivares.

TABELA 1. Substâncias encontradas nos diferentes óleos essenciais de folhas de goibeira *P. guajava* e sua abundância (%)

Compostos	Cultivares		Silvestre
	Pedro Sato	Paluma	
benzaldeído	N	1,98	1,68
hidrato de cis-sabineno	N	1,1	N
α -terpineol	0,98	14,85	N
dl-limoneno	N	N	6,97
1,8-cineol	6,98	16,73	3,59
β -cariofileno	7,17	6,25	5,11
α -humuleno	1,36	1,10	6,21
cis- β -guaieano	5,52	2,24	4,95
α -selineno	3,98	2,03	3,72
trans-nerolidol	3,81	4,04	4,62
óxido de cariofileno	13,83	N	9,29
epiglobulol	N	1,43	N
selin-11-en-4- α -ol	N	N	13,53
Rendimento (% p/p)	0,09	0,10	0,11

N - substância não encontrada no óleo essencial

O óleo essencial ‘Pedro Sato’ se diferencia dos demais na concentração do óxido de cariofileno (13,83%) e do 1,8 cineol (6,98%). O óleo essencial ‘Paluma’ apresenta alta concentração de α -terpineol (14,85%) e de 1,8-cineol (16,73%) e não apresentou em sua constituição óxido de cariofileno. O óleo da planta silvestre se diferencia por apresentar em sua constituição o dl-limoneno (6,97%) e o selin-11-en-4- α -ol (13,53%), diferentemente dos demais.

Vários trabalhos realizados mostraram que o óleo essencial das folhas de goiabeira possui muitas substâncias em comum com as encontradas nos óleos em estudo. Craveiro et al. (1981) caracterizaram o óleo essencial de folhas de goiabeira e identificaram 21 compostos, dentre os quais citam-se α -terpineol, α -humuleno, β -cariofileno e β -guaieno. Cuellar et al. (1984) e Pino et al. (2001), realizando o mesmo trabalho de caracterização encontraram o 1,8-cineol, óxido de cariofileno e d-limoneno, entre outros.

O cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’ apresentou 20 picos (Figura 14). Dentre os compostos identificados estão o 1,8-cineol e o α -terpineol, na concentração de 6,98% e 0,98 % respectivamente, sendo encontrado também o óxido de cariofileno com (13,83%) (Tabela 2).

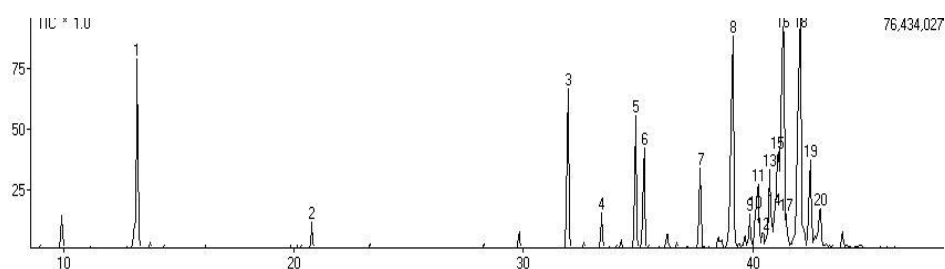


FIGURA 14. Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’

TABELA 2. Compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’

Picos	Tempo de retenção (min)	Composto	%
1	13,208	1,8-cineol	6,98
3	31,994	trans-cariofileno	7,17
5	34,942	cis- β -guaieno	5,52
8	39,170	óxido de cariofileno	13,83

O 1,8-cineol (Figura 11), com tempo de retenção (Rt) 13,208 minutos, foi identificado de acordo com seu espectro de massas encontrado, comparado com o espectro de massas da biblioteca eletrônica (Figura 15). Observando-se o espectro de massas, evidencia-se a formação dos principais fragmentos m/z e sua porcentagem em relação ao fragmento de maior intensidade, o íon molecular $[M^+]$ é 154 (15), os demais 139 (27), 108 (66), 84 (69), 81 (100), 55 (57) e 43 (90).

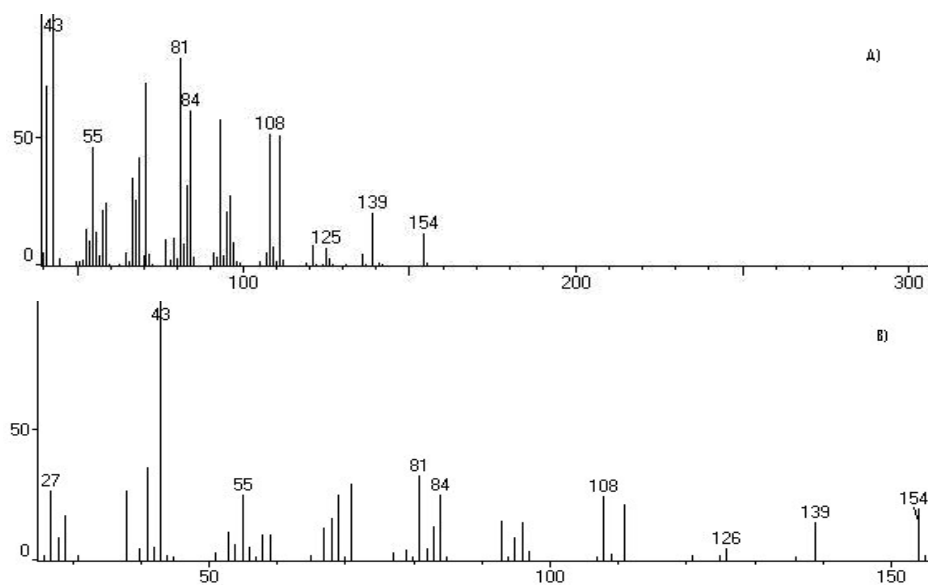


FIGURA 15. A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 13,208 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do 1,8 cineol

Salgado et al. (2003), avaliando a atividade fungitóxica dos óleos essenciais de três espécies de eucalipto (Myrtaceae), *E. citriodora*, *E. urophylla* e *E. camaldulensis*, encontraram no óleo de *E. camaldulensis* o 1,8 cineol (8,82%) (Figura 12) e o α -terpineol (7,77%). Estas substâncias estão presentes em muitas espécies da família das mirtáceas e são consideradas inseticidas por diversos autores (Prates et al., 1998; Penteado, 1999; Lee et al., 2004).

O β -cariofileno (Figura 16), com Rt 31,994 minutos, foi identificado por comparação de seu espectro de massas (Figura 17) o qual revela a presença do pico m/z 93, característico de olefinas (Silverstein & Webster, 2000). Os fragmentos encontrados m/z são $[M^+]$ 204 (4), 133 (68), 93 (100), 69 (90), e 55(54).

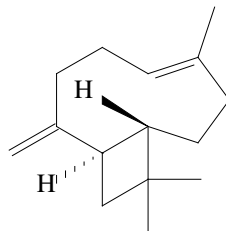


FIGURA 16. Estrutura química do β -cariofileno

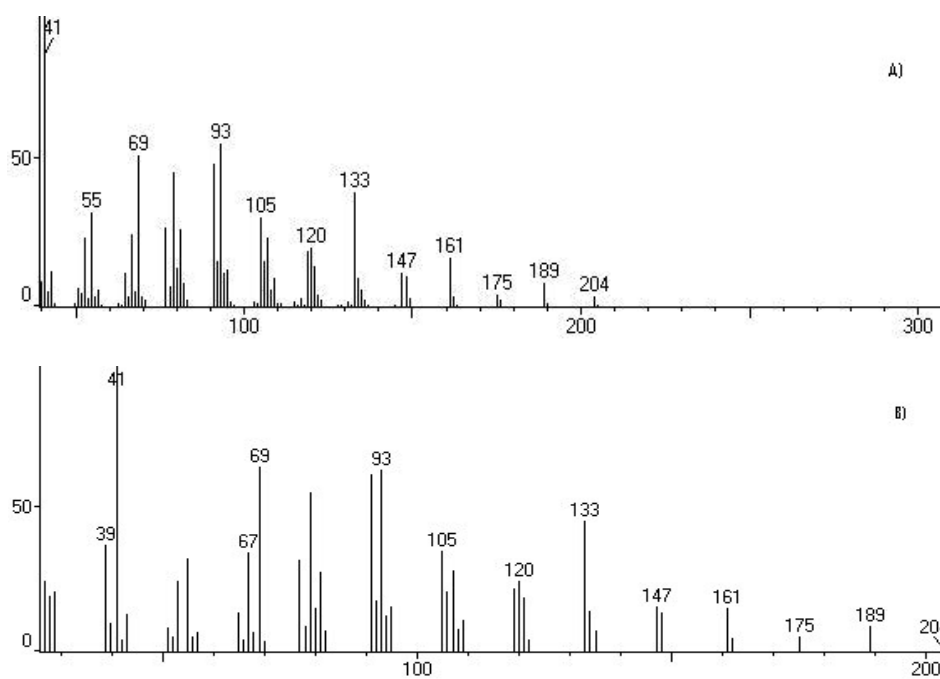


FIGURA 17. A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 31,994 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do β -cariofileno

Castro (2004), avaliando a atividade inseticida dos óleos essenciais de tomilho e mil-folhas, encontrou em sua constituição, como um dos compostos majoritários, o β -cariofileno, na concentração de 3,52% no óleo de mil-folhas.

Oliveira et al. (2005), estudando o óleo essencial de *Eugenia punicifolia* (Myrtaceae) em diferentes localidades de Pernambuco constataram que o β -cariofileno foi um dos compostos majoritários encontrado com concentrações de 16,2% e 22,7%, para a mesma espécie.

O óxido de cariofileno (Figura 18) pode ser identificado pelos valores de Rt 39,170 minutos e por comparação dos picos m/z do espectro de massas encontrado com o da biblioteca (Figura 19). Os fragmentos m/z encontrados evidenciam o $[M^+]$ de 220 (2), os demais 107 (47), 109 (42), 93 (80), 55 (42).

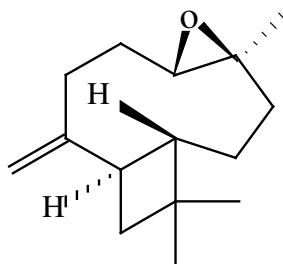


FIGURA 18. Estrutura química do óxido de cariofileno

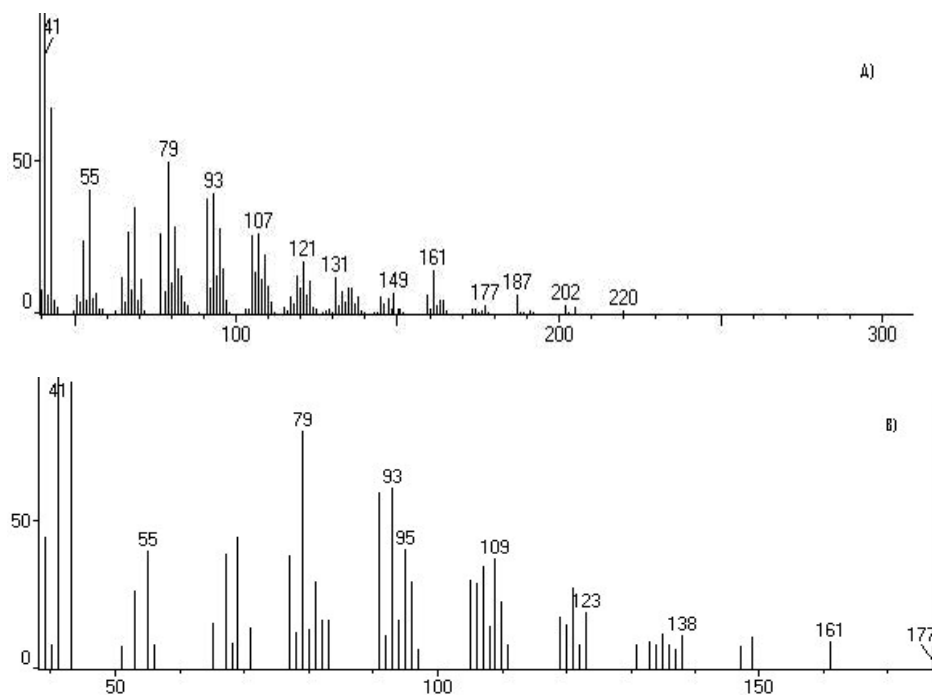


FIGURA 19. A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 39,170 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do óxido de cariofileno

O cromatograma do óleo essencial da folha da goiabeira ‘Paluma’ apresentou 18 picos diferentes (Figura 20). Algumas destas substâncias foram identificadas, como o 1,8-cineol (16,73%) e o α -terpineol (14,85%), também encontradas no óleo essencial da planta silvestre e na ‘Pedro Sato’ (Tabela 1) e outros compostos majoritários, como o β -cariofileno e o trans-nerolidol, com concentração de 6,25% e 4,04% respectivamente (Tabela 3).

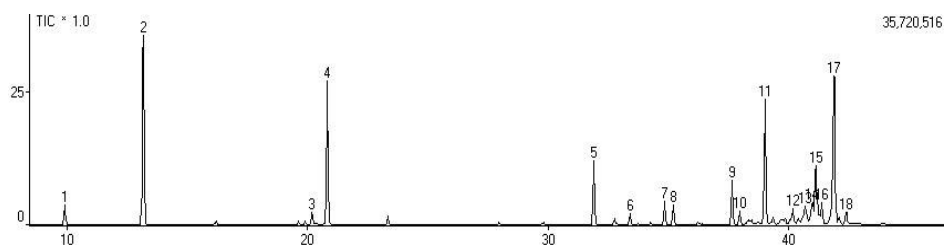


FIGURA 20. Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira ‘Paluma’

TABELA 3. Compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de goiabeira ‘Paluma’

Pico	Tempo de retenção (min)	Composto	%
2	13,242	1,8-cineol	16,73
4	20,806	α -terpineol	14,85
5	31,983	β -cariofileno	6,25
9	37,779	trans-nerolidol	4,04

O α -terpineol (Figura 21) foi identificado por comparação de seu Rt 20,806 minutos e pelo seu espectro de massas que revela a presença do pico base 59 m/z (Figura 22) característico de álcoois (Silverstein & Webster, 2000). Sua fragmentação esta apresentada na Figura 23, sendo os fragmentos m/z 136 (33), 121 (41), 107 (26), 93 (75) e 59 (100) os mais importantes.

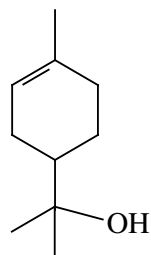


FIGURA 21. Estrutura química do α -terpineol

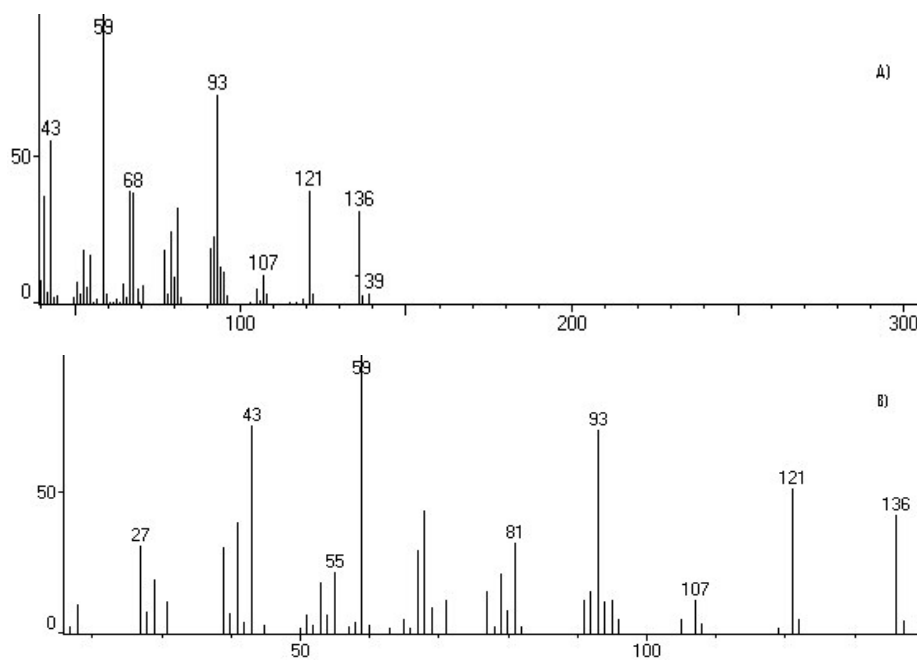


FIGURA 22. A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 20,806 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do α -terpineol

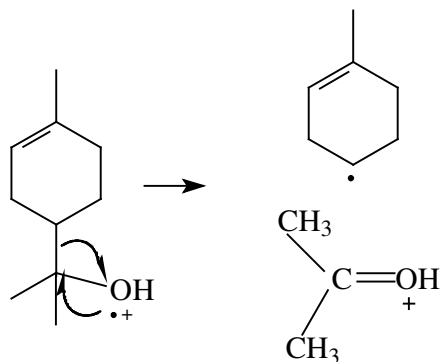


FIGURA 23. Fragmentação do α -terpineol, levando à formação do fragmento m/z 59

Lucchese et al. (2005) encontraram o α -terpineol como um dos constituintes majoritários do óleo essencial do arbusto *Lippia alnifolia* (Verbenaceae).

O trans-nerolidol (Figura 24) foi identificado pelo seu R_t 37,779 minutos juntamente com seu espectro de massas (Figura 25). É um álcool terciário que fragmenta facilmente com quebra da ligação C-C vizinha do átomo de oxigênio resultando no íon com m/z 195. Este é estabilizado por ressonância, que se decompõe para dar outro íon moderadamente intenso m/z 69 (Figura 26). O pico m/z 93 é produzido por isomerização (provocada por um aumento na conjugação) em um dos lados da molécula seguida da clivagem alílica (Figura 27) (Silverstein & Webster, 2000). Para esta molécula, o $[M^+]$ é 222.

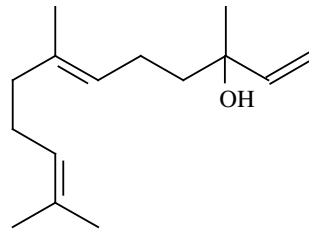


FIGURA 24. Estrutura química do trans-nerolidol

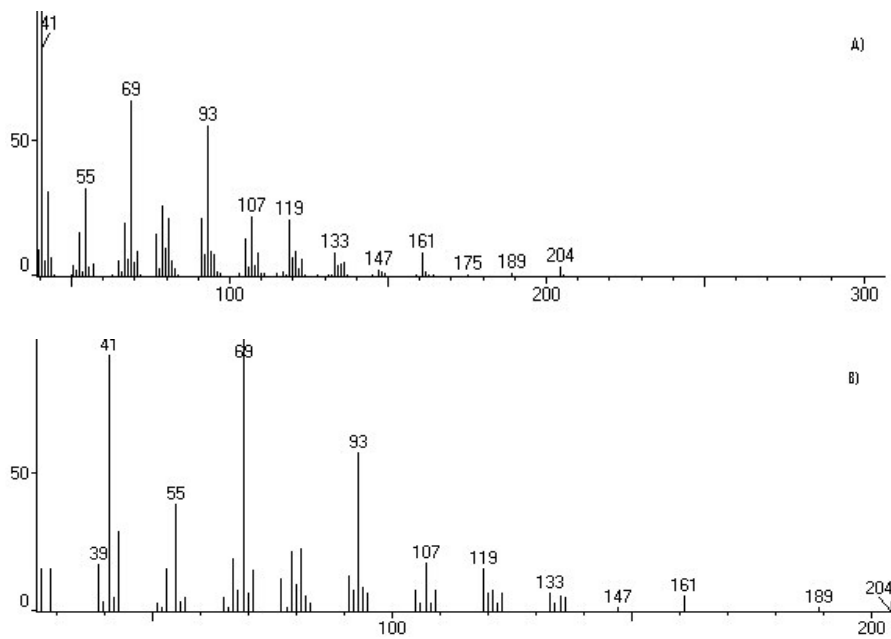


FIGURA 25. A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 37,779 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do trans-nerolidol

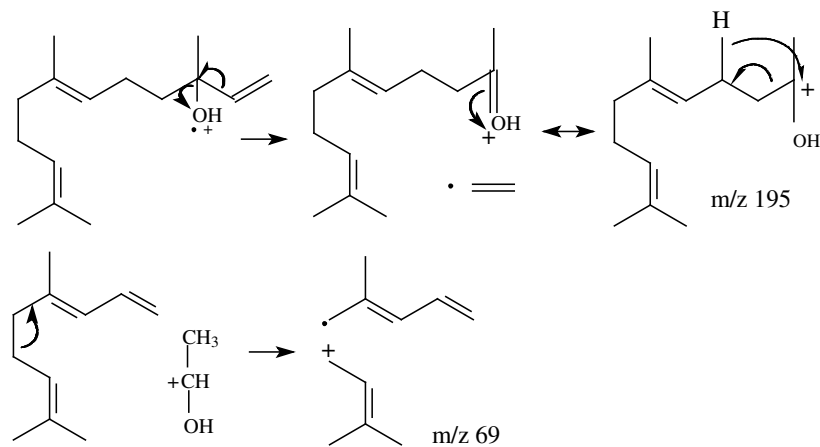


FIGURA 26. Fragmentação do trans-nerolidol, levando à formação dos fragmentos m/z 69

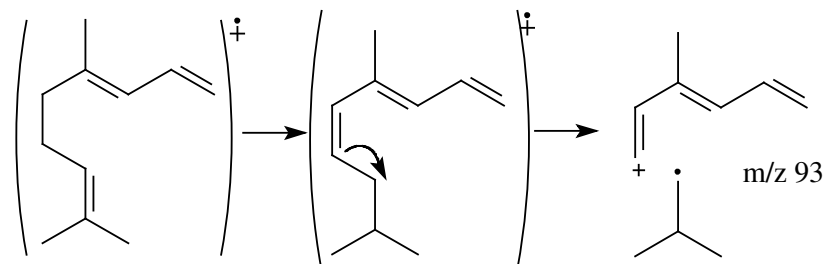


FIGURA 27. Fragmentação do trans-nerolidol, levando à formação dos fragmentos m/z 93

Gottlieb et al. (1981) descreveram a composição do óleo volátil de *Myrcia cuprea* (O. Berg) (Myrtaceae) e encontraram como composto majoritário o trans-nerolidol.

O trans-nerolidol e o trans-anetol são encontrados no óleo essencial de *Tagetes minuta* (Asteraceae). Cestari et al. (2004) avaliaram a atividade deste óleo essencial no controle de piolhos *Pediculus humanus capitis*, o qual se mostrou tóxico e, com a investigação histológica, foi possível observar que houve um desarranjo nos filamentos de actina e miosina nos indivíduos tratados.

Em outro estudo, realizado recentemente por Limberger et al. (2004) com espécies de *Myrcia*, foi constatada a predominância de sesquiterpenos cíclicos dos grupos cariofilano, germancrano e cadinano no óleo essencial, tendo o β -cariofileno sido encontrado na concentração de 23,3% em *M. hatschbachii* e o óxido de cariofileno na concentração de 26,3% em *M. arborescens*.

O cromatograma do óleo essencial de folhas de goiabeira silvestre (Figura 28) apresentou 21 picos diferentes (Tabela 4). Com a análise dos espectros de massas de cada pico foi possível identificar 10 substâncias, dentre as quais três importantes, o 1,8 cineol, o dl-limoneno e o α -terpineol, considerados inseticidas por Prates et al. (1998).

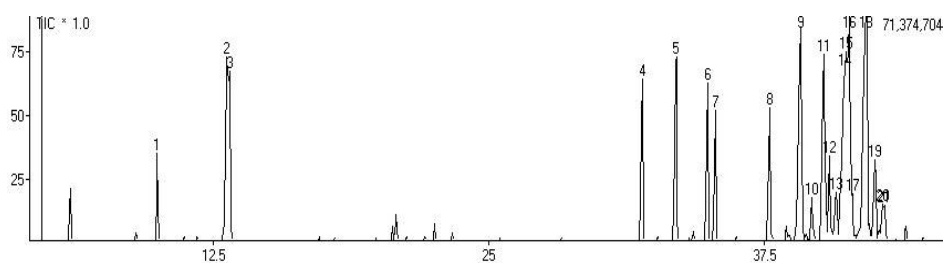


FIGURA 28. Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira silvestre

TABELA 4. Compostos majoritários presente no óleo essencial das folhas de goiabeira silvestre

Pico	Tempo de retenção (min)	Composto	%
2	13,117	dl-limoneno	6,97
3	13,242	1,8-cineol	3,59
4	31,983	β -cariofileno	5,11
7	33,519	α -humuleno	6,21
9	39,169	óxido de cariofifeno	9,29
20	42,148	selin-11-en-4- α -ol	13,53

O dl-limoneno (Figura 29) apresentou Rt 13,117 minutos e foi identificado de acordo com seu espectro de massas (Figura 30). Apresenta o fragmento correspondente ao pico base em m/z 68 (Figura 31), resultante da movimentação de elétrons no ciclohexano. A Figura 32 apresenta a fragmentação, que gera o sinal correspondente ao íon em m/z 93 característico de alquenos (Silverstein & Webster, 2000). O $[M^+]$ 136 (12), 121 (18), 93 (69), 68 (100) e 67 (82).

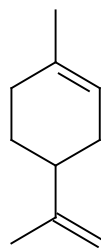


FIGURA 29. Estrutura química do dl-limoneno

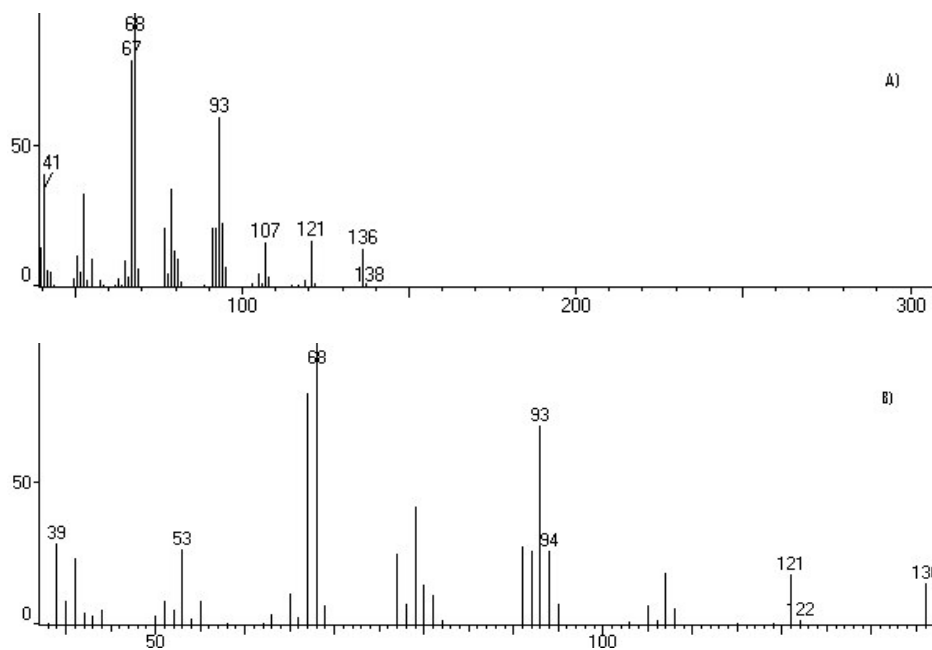


FIGURA 30. A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 13,117 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do dl-limoneno.

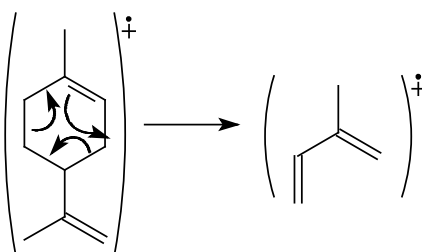


FIGURA 31. Fragmentação do pico-base do dl-limoneno

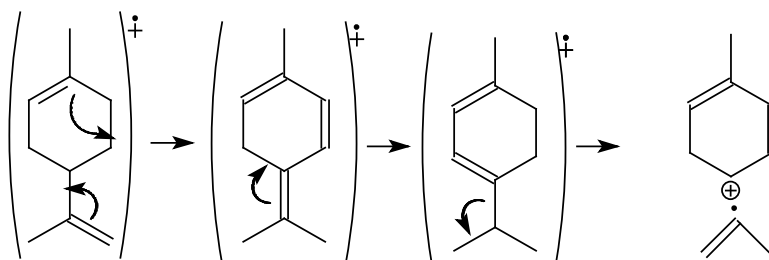


FIGURA 32. Fragmentação do dl-limoneno levando a formação do fragmento m/z 93

O dl-limoneno é um terpenóide isolado de espécies de citros e tem princípio ativo contra a lagarta-do-cartucho, pernilongo, pragas de grãos armazenados e besouro. Seu efeito consiste, principalmente, na repelência, podendo atuar também na inibição da reprodução em várias espécies de insetos (Alford et al., 1987; Karr et al., 1990).

O 1,8 cineol, com tempo de retenção em 13,242 minutos, está presente em baixa concentração de 3,59% neste óleo. Prates et al. (1998) observaram que este composto presente no capim-gordura na concentração de 10,6%, foi capaz de matar 100% das larvas do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). Lee et al. (2004) observaram que este composto mesmo em altas concentrações apresentou uma baixa toxicidade para *S. oryzae*, quando comparado com o *T. castaneum* e *R. dominica*.

O selin-11-en-4- α -ol (Figura 33) pode ser identificado devido ao seu R_t em 42,148 minutos, juntamente com seu espectro de massas (Figura 34) por comparação dos picos m/z . Observando-se o espectro de massas, evidencia-se que a formação dos principais fragmentos m/z é: $[M^+]$ 222 (2), 204 (33), 189 (38), 1333 (41), 105 (58), 93 (72) e 81 (100).

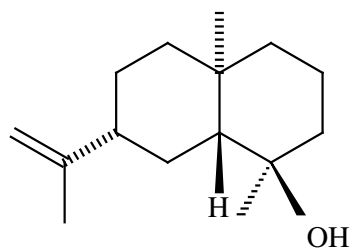


FIGURA 33. Estrutura química do selin-11-en-4- α -ol

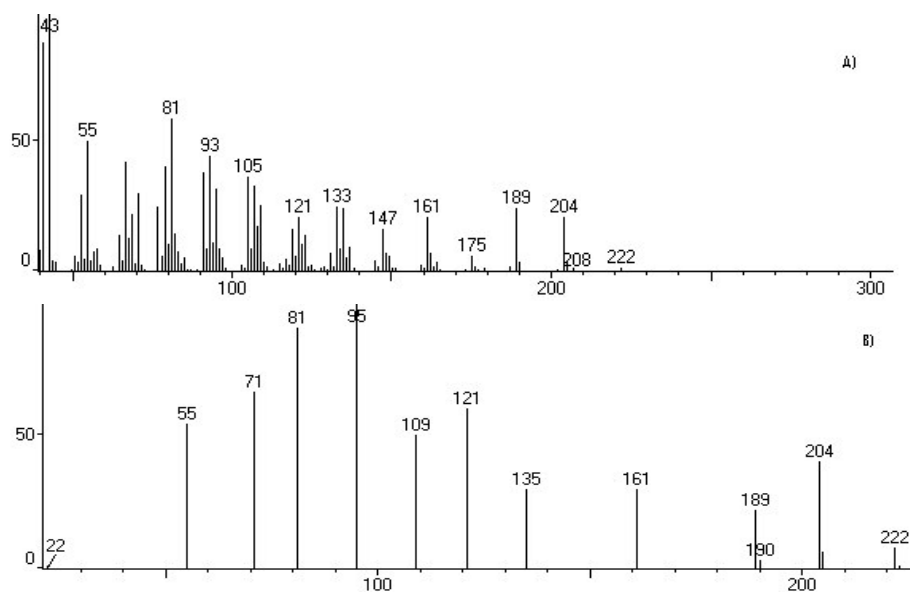


FIGURA 34. A) Espectro de massas encontrado para o tempo de retenção de 42,148 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do selin-11-en-4- α -ol

4.2 Bioatividade do óleo essencial

4.2.1 Teste de preferência com chance de escolha

No teste de preferência com chance de escolha, verificou-se (Tabela 5) uma nítida não preferência das lagartas pelas folhas de milho tratadas com óleo essencial de folhas de goiabeira, principalmente nas avaliações às 48 e as 72 horas. Nos tratamentos controle, isto é, folhas tratadas com água e etanol/água, as lagartas apresentaram um comportamento de seleção semelhante, demonstrando que o etanol utilizado na diluição do óleo essencial não foi a causa da repelência das lagartas.

Quanto à concentração do óleo essencial, os resultados indicaram um efeito mais pronunciado da maior dosagem (0,01%) em relação à menor (0,001%). Infere-se que outros ensaios seriam necessários para a escolha de uma dosagem mínima que poderia afetar o comportamento da lagarta-do-cartucho.

TABELA 5. Número médio de lagartas *S. frugiperda* em secções de milho tratadas com o óleo essencial (O.E.) de folhas de goiabeira 'Pedro Sato'.

Tratamentos	Número de lagartas		
	24h	48h	72h
O.E. 0,01%	1,5 b	1,0 c	1,1 c
O.E. 0,001%	3,7 ab	2,6 bc	2,6 bc
Test. etanol/água	3,8 ab	5,9 ab	6,0 a
Test. Água	5,8 a	6,5 a	4,7 ab
CV %	56	74	60

As médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$)

4.2.2 Teste de preferência sem chance de escolha

Com o teste sem chance de escolha, foi possível avaliar a mortalidade e o consumo alimentar das lagartas. Os dados obtidos (Tabela 6) demonstraram que o óleos essencial de folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’ não provocou mortalidade significativa e não afetou o comportamento alimentar das lagartas, na duas concentrações estudadas.

TABELA 6. Média de mortalidade e consumo alimentar de lagartas *S. frugiperda* em secções de milho tratadas com óleo essencial (O.E.) de folhas de goiabeira ‘Pedro Sato’.

Tratamentos	Mortalidade (%) *		Consumo alimentar (mg)*	
	48h	96h	48h	96h
O.E. 0,01%	23,5	51,1	181,37	208,78
O.E. 0,001%	29,5	31,0	188,30	160,28
Test. etanol/agua	29,5	59,6	162,13	221,67
Test.água	28,8	46,8	135,64	137,37
CV (%)	75	40	55	58

* Médias com diferenças não significativas pelo teste F

Estudos realizados de caracterização demonstraram que o óleo essencial de folhas de goiabeira apresentaram, na sua constituição, importantes compostos com potencial inseticida. Dentre eles 1,8-cineol, d-limoneno e α -pineno (Craveiro et al., 1981; Cuellar et al., 1984; Pino et al., 2001).

Holtz et al. (2003), avaliando aspectos biológicos da lagarta *Thyrintaina arnobia* (Stoll) em plantas de eucalipto e ou de goiabeira, em condições de

campo, observaram que as lagartas apresentaram dificuldades no desenvolvimento e no estabelecimento de populações em plantas de goiabeira. Relacionaram esta atividade aos compostos químicos presentes nas folhas, dentre eles os óleos essenciais.

Castro (2004) verificou o potencial inseticida para *S. frugiperda* dos óleos essenciais de mil-folhas e de tomilho, relacionando esta atividade à presença das substâncias germancreno-D e timol encontradas nestas plantas.

Os resultados obtidos nesta pesquisa puderam comprovar os efeitos inseticidas de repelência e ou deterrência do óleo essencial de folhas de goiabeira para a lagarta-do-cartucho do milho.

5 CONCLUSÃO

Os três óleos essenciais analisados apresentam substâncias majoritárias em comum, como o 1,8-cineol. O óleo essencial das folhas de goiabeira 'Paluma' difere dos demais devido à maior concentração desta substância e do α -terpineol e o óleo da planta silvestre devido à presença do dl-limoneno e do selin-11-en-4- α -ol, não identificados nas outras.

O óleo essencial de folhas de goiabeira 'Pedro Sato' mostrou-se inseticida repelente/deterrente a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCORSI, W. R.; HAAG, H. P.; MELLO, F. A. F.; BRASIL SOBRINHO, M. O. C. Sintomas externos (morfológicos) e internos (anatômicos), observados em folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), de plantas cultivadas em solução nutritiva com carência de macronutrientes. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, v. 17, n. 1, p. 3-13, 1960.

AGARWAL, M.; WALIA, S.; DRINGRA, S.; KHAMBAY, B. P. S. Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated/derived from *Zingiber officinale* Roscoe (ginger) rhizomes. **Pest Management Science**, Sussex, v. 57, n. 3, p. 289-300, Mar. 2001

ALFORD, A. R.; CULLEN, J. A.; STORCH, R. H.; BENTLEY, M. D. Antifeedant activity of Limonin against the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 80, n. 3, P. 575-588, Mar. 1987.

ALMEIDA, C. E.; KARNIKOWSKI, M. G.; FOLETO, R.; BALDISSEROTTO, B. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 428-33, dez. 1995.

AOCS Official Method Da2b-42. In: FIRESTONE, D. (Ed.). **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**. 4. ed. Champaign, IL: American Oil Chemists' Society, 1994.

ARGANDOÑA, V.; DEL POZO, T.; SAN-MARTÍN, A.; ROVIROSA, J. Insecticidal activity of *Plocamium cartilagineum* monoterpenes. **Boletim de la Sociedad Chilena de Química**, Concepción, v. 45, n. 3, 2000.

BOGORNÍ, P. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de Extratos aquosos de *Trichilia* ssp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 665-669, Oct./Dec. 2003.

BOGORNÍ, P. C.; VENDRAMIM, J. D. Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* ssp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34 n. 2, p. 311-317, mar./abr. 2005.

BOUDA, H.; TAPONDJOU, A. L.; FONTEM, D. A.; GUMEDZOE, M. Y. D. Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 37, n. 2, p. 103-109, Apr. 2001.

BOWERS, W. S.; OHTA, T.; CLEERE, J. S.; MARSELLA, P. A. Discovery on insect anti-juvenile hormones in plants. **Science**, Washington, v. 193, n. 4253, p. 542-547, 1976.

BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D., Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro, **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 455-459, July/Sept. 2001.

CASTRO, D. P. de. **Atividade inseticida de óleos essenciais de *Achillea millefolium* e *Thymus vulgaris* sobre *Spodoptera frugiperda* e *Schizaphis graminum***. 2004. 73 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) – Universidade Federal de Lavras, MG.

CASTRO, H. G. de; OLIVEIRA, L. O. de; ALMEIDA, L. C. de B.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H. da; 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, jan./fev. 2004.

CESTARI, I. M.; SARTI, S. J.; WAIB, C. M.; JUNIOR BRANCO, A. C. Evaluation of the potential insecticide activity of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against the head louse *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 805-807, Nov./Dec. 2004.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. [S. l.]: UFC, 1981. 210 p.

CUELLAR, A. C.; LARA, R. A.; ZAYAS, J. P. *Psidium guajava* L. Tamizaje fitoquímico y estudio del aceite esencial. **Revista Cubana de Farmacia**, La Habana, v. 18, n. 1, p. 92-99, 1984.

DESCHAMPS, C. Biossíntese de óleos essenciais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3., 2005, Campinas. n. 161 p. (Documentos IAC, 77).

ESTRELA, J. L. V.; GUEDES, R. N. C.; MALTHA, C. R. A.; FAZOLIN, M. Toxicidade de amidas análogas a piperina a lavras de *Ascia monuste orseis* G. (Lepitoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctudae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 343-346, Apr./June 2003.

FARIAS, P. R. S.; BARBOSA, J. C.; BUSOLI, A. C. Amostragem Sequencial com Base na Lei de Taylor para Levantamento de *Spodoptera frugiperda* na Cultura do Milho. Nota. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 2, p. 395-399, abr./jun. 2001.

FRANCISCO, V. L. F. S.; BAPTISTELLA, C. S. L.; AMARO, A. A. **A cultura da goiaba**. Portal do governo do estado de São Paulo. Instituto de Economia Agrícola, 16 mar. 2005. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br>> Acesso: 02 out. 2005.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E. et al. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. v. 10, 920 p.

GONÇALVES, M. E. C.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Efeito de extratos vegetais sobre estágios imaturos e fêmeas adultas de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari:Tetranychidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 305-309, Apr./June 2001.

GOTTLIEB, O. R.; KOTESU, M. L.; MAGALHÃES, M.; GUILHERME, M.; MENDES, P.; ROCHA, A.; SILVA, M.; WILBERG, V. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 11, n. 1, p. 143-148, 1981.

GUTIERREZ, A. de S.; WATANABE, H.; SHMIDT, M. dos R. A goiaba em números, **Futas e Legumes**, São Paulo, v. 2, n. 14, p. 18-21, maio/jun. 2002.

HARBONE, J. B. **Ecological biochemistry**. 4. ed. London: Academic, 1993.

HOLTZ, A. M.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, H. G.; PALLINI, A.; MARINHO J. S.; OLIVEIRA, C. L.; PINON, T. B. M. Aspectos biológicos de *Thyrinteina arnobia* (Lep. : Geometridae) provenientes de lagartas criadas em folhas de *Eucalyptus cloeziana* ou de *Psidium guajava* sob condições de campo. **Revista Arvore**, Viçosa- MG, v. 23, n. 6, p. 897-901, 2003.

HUANG, Y.; HO, S. H.; LEE, H. C.; YAP, Y. L. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 38, n. 5, p. 403-412, 2002.

IDSTEIN, H.; BAUER, C.; SCHREIER, P. Volatile acids in tropical fruits: cherimoya (*Annona cherimolia*, Mill.), guava (*Psidium guajava*, L.), mango (*Mangifera indica*, L., var. Alphonso), papaya (*Carica papaya*, L.). **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, New York, v. 180, n. 5, p. 394-397, 1985.

ISMAN, M. B.; WAN, A. J.; PASSREITER, C. M. Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*, **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 72, n. 1, p. 65-68, Jan. 2001.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Óleos Voláteis de Espécies de *Myrcia* Nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 916-919, nov./dez. 2004.

LUCCHESI, A. M.; CASTRO, P. R.; ZAIM, C. Y. H.; ZAIM, M. H.; SANTOS, T. R. Avaliação comparativa do óleo essencial de *Lippia alnifolia*. In: Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais, 3., 2005, Campinas –SP. (Documentos IAC, n. 77).

KARR, L. L.; DREWES, C. D.; COATS, J. R. Toxic effects of d-limonene in the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 36, n. 2, p. 175-186, Feb. 1990.

KASTEN-JUNIOR, P.; PRECETTI, A. A. C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 53, n. 1/2, p. 68-78, jun. 1978.

LABINAS, M. A.; CROCOMO, W. B. Effect of java grass (*Cymbopogon winteranus*) essential oil on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1979) (Lepidóptera, Noctuidae). **Acta Scientiarum**, Maringa, v. 24, n. 5, p. 1401-1405, 2002.

LEE, BYUNG-HO; ANNIS, P. C.; TUMAALII, F.; CHOI, WON-SIK. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 40, p. 553–564, 2004.

LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. M. de. Influência dos Fatores Abióticos na Produção e Variabilidade de Terpenóides em Plantas. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, p. 71-77, ago./dez. 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002. 512 p.

LOZOYA, X.; REYES-MORALES H.; CHÁVEZ-SOTO M. A.; MARTÍNEZ-GARCÍA M. DEL C.; SOTO-GONZÁLEZ Y.; DOUBOVA, S. V. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 83, n. 1/2, p. 19-24, Nov. 2002.

LUTTERODT, G. D. Inhibition of gastrointestinal release of acetylcholine by quercetin as a possible mode of action of *Psidium guajava* leaf extracts in the treatment of acute diarrhoeal disease. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 25, n. 3, p. 235-247, May 1989.

MACHADO, V. L. L.; PALMA, M. S.; OLIVEIRA, M. da C. Ação Repelente de óleos essenciais da folha de louro (*Laurus nobilis* L.) em ninfas e adultos de *Periplaneta americana* (L.) (Blattaria: Blatitidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 24, n. 1, p. 13-20, abr. 1995.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SALVADOR, J. O; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. **Goiaba**. Porto Alegre, RS, 2000. 374 p. (Serie Fruticultura Tropical 6).

MERCADANTE, A. Z.; STECK, A.; PFANDER, H. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L.): isolation and structure elucidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 2, p. 145-15, Feb. 1999.

MORAIS, A. A. de; REZENDE, C. M. A. da M.; VON BÜLOW; MOURÃO, J. C.; NAKATANI, M.; JAMES, J. C.; NAKANISHI, K. Isolation and structure of trichilins, antifeedants against the southern army worm. **Journal of American Chemistry Society**, Washington, v. 103, n. 5, p. 1228-1230, 1981.

NASCIMENTO, G. G. F.; JULIANA LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial Activity of Plant Extracts and Phytochemicals on Antibiotic-Resistant Bacteria, **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 247-256, Oct./Dec. 2000.

NOGUEIRA, J. N.; SOYBIHE SOBRINHO, J.; VENCOSVSKY, R.; FONSECA, H. Effect of storage on the levels of ascorbic acid and beta-carotene in freeze dried red guava (*Psidium guajava* L.). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 28, p. 363-377, 1978.

NUGROHO, B. W.; EDRADA, R. A.; GUSSREGEN, B.; WRAY, V.; PROKSCH, P. Insecticidal rocaglamide derivatives from *Aglaiia duppereana*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 44, n. 8, p. 1455-1461, Apr. 1997.

OLIVEIRA, J. V.; VENDRAMIM, J. D. Repelência de óleos essenciais e pós vegetais sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijoeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 549-556, dez. 1999.

OLIVEIRA, R. N.; DIAS, I. J. M.; CÂMARA, C. A. G. Estudo comparativo de óleo essencial de *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. De diferentes localidades de Pernambuco. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 39-43, jan./mar. 2005.

OPUTE, F. I. The component fatty acids of *Psidium guajava* seed fats. **Journal of Science and Food Agriculture**, London, v. 29, n. 8, p. 737-738, Aug. 1978.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas aplicações no manejo de pragas**. São Paulo: Malone, 1991. 391 p.

PENTEADO, S. R. **Defensivos alternativos e naturais: para uma agricultura saudável**. Campinas, SP, 1999. 95 p.

PEREIRA, F. M. **Cultura da Goiabeira**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 47 p.

PIMENTEL, F. A.; CARDOSO, M. G.; SALGADO, A. P. S. P.; AGUIAR, P. M.; SILVA, V. F.; MORAIS, A. R.; NELSON, D. L. A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, 2006.

PINO, J. A.; AGUERO, J.; MARBOT, R.; FUENTES, V. Leaf oil of *Psidium guajava* L. from Cuba. **Journal Essential Oil Research**, Carlo Stream, v. 31, n. 1, p. 61-62, Jan./Feb. 2001.

PRATES, H. T.; SANTOS, J. P.; WAQUIL, J. M.; FABRIS, J. D.; OLIVEIRA, A. B.; FOSTER, J. E. Insecticidal Activity of Monoterpenes Against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbs). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 34, n. 4, p. 243-249, Oct. 1998.

QIAN, H.; NIHORIMBERE, V. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf, **Journal of Zhejiang**, Hangzhou, v. 5, n. 6, p. 676-683, 2004.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo, 1997. 372 p.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 799-808, dez. 2000.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. A.; ABREU, C. M. P.; PINTO, J. E. B. P. Avaliação fungitóxica de óleos essenciais das folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinérea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 345-349, mar./abr. 2003.

SANT'ANA, J.; STEIN, K. Extração e identificação de substância bioativas de insetos. In: FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: Ed. da UFSCar, 2001. 176 p. (Série de Testos da Escola de Verão em Química, v. 3).

SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; CASTRO, E. M.; CARDOSO, M. G.; REZENDE, R. K. S.; PAIVA, P. D. O. Aspects of the anatomy and essential oil in leaves of pindaíba (*Xylopia brasiliensis* Spreng.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 2, p. 345-349, mar./abr. 2004.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2004.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos, 2000. 460 p.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. da C.; CONCEIÇÃO, S. da R.; KUSTER, R. M.; OLIVEIRA FILHO, A. M. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 46-49, jan./fev. 2004.

SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2004.

TAPONDJOU, A. L.; ADLER, C.; FONTEMC, D. A.; BOUDA, H.; REICHMUTH, C. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* Val. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 91-102, 2005.

THOMAZINI, A. P. B. W.; VENDRAMIM, J. D.; LOPES, M. T. R. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 13-17, jan./mar. 2000.

TRABOULSI, A. F.; TAOUBI, K.; EL-HAJ, S.; BESSIERE, J. M.; RAMAL, S. Insecticidal properties of essential plants oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science**, Sussex, v. 56, n. 3/4, p. 211-215, May 2002.

VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. **Controle biológico da lagarta – do – cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 1991. 23 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular técnica, n. 15).

VIANA, P. A.; PRATES, H. T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 1, p. 69-74, 2003.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; ANDREI, C. C. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2004. 1102 p.

VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M. W. Inseticidas de origem vegetal. In: FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: Ed. da UFSCar, 2001. 176 p. (Série de Testos da Escola de Verão em Química, v. 3).