

**ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Achillea millefolium* e *Thymus
vulgaris* SOBRE *Spodoptera frugiperda* e *Schizaphis
graminum***

DANIELE PEREIRA DE CASTRO

2004

DANIELE PEREIRA DE CASTRO

ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Achillea millefolium* e *Thymus vulgaris* SOBRE *Spodoptera frugiperda* e *Schizaphis graminum*

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

Orientadora

Dra. Maria das Graças Cardoso

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2004

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

Castro, Daniele Pereira de
Atividade inseticida de óleos essenciais de *Achillea millefolium* e *Thymus vulgaris* sobre *Spodoptera frugiperda* e *Schizaphis graminum* / Daniele Pereira de Castro. -- Lavras : UFLA, 2004.

73 p. : il.

Orientadora: Maria das Graças Cardoso.
Dissertação (Mestrado) – UFLA.
Bibliografia.

1. Mil-folhas. 2. Tomilho. 3. Lagarta do cartucho. 4. Pulgão verde. 5. Inseticida natural. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-632.96
-633.89

DANIELE PEREIRA DE CASTRO

ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Achillea millefolium* e *Thymus vulgaris* SOBRE *Spodoptera frugiperda* e *Schizaphis graminum*

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

APROVADA em 20 de fevereiro de 2004

Prof. David Lee Nelson UFMG

Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes UFV

Prof. Jair Campos de Moraes UFLA

Prof. Maria das Graças Cardoso
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

Ao meu querido pai, Emilio, minha inspiração profissional, exemplo de pessoa e pesquisador.

À minha querida mãe, Dulce Léa, pelo exemplo de perseverança e garra, sempre me aconselhando a correr atrás de meus objetivos e ser feliz.

OFEREÇO

Ao meu amor, Paulo, pela compreensão, confiança e apoio. Aos meus irmãos, Issa e Dri, pelo carinho e força.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À professora Maria das Graças Cardoso pela orientação, dedicação e amizade. Sua confiança e perseverança foram essenciais para realização deste projeto.

Ao professor Jair Campos de Moraes pela atenção, disposição, orientação e pelos ensinamentos em geral.

Ao Nicolau Santos pela ajuda inigualável durante toda condução dos bioensaios, pelo entusiasmo, dedicação, amizade e por estar sempre disponível.

Ao Departamento de Química, professores, secretárias e funcionários pela convivência e cooperação. Em especial a Míriam e Nilda por serem tão prestativas.

Ao professor Mário César Guerreiro pelos espectros de massa, e pela boa vontade em ajudar sempre.

À Fabiana Muniz por me ajudar nas horas de maior necessidade, principalmente nas férias, e pela amizade.

Aos colegas de Laboratório, Vanisse, Annete, Fabiana, Danielle, Ana Carolina, Ana Paula, Tácito, Flávio Pimentel, Fernando e Wellington, por estarem sempre colaborando, e em especial a Priscila por ser uma grande companheira e amiga.

Ao Departamento de Entomologia, professores, secretárias e funcionários. Em especial a Elaine, Nazaré, Néia e Marli pela ajuda na condução do experimento e amizade.

Ao professor Geraldo Andrade Carvalho pelo conhecimento transmitido e colaboração.

Ao Wagner pelas grandes dicas e pelas sementes de milho concedida com o maior carinho.

Ao professor Manuel Losada Gavilanes pela identificação e classificação das plantas estudadas.

Aos colegas de pós-graduação da Química (Valéria, João, Daniella, Ana Paula e Lucília), Entomologia (Luiz Carlos, Rogério, Alexandre) e outros (Débora, Leonel, Luciano e Silvana).

Aos meus grandes amigos Tunim e Lizi, pelo companheirismo, conselhos, disposição em ouvir e cumplicidade em todos momentos. Vocês não são apenas grandes amigos, são amigos eternos independente de onde estiverem.

Às minhas irmãs de república (Claudinha, Maísa, Cláudia, Carol e Cíntia) pela amizade e apoio.

À minha vó Terezinha pela ajuda e compreensão.

Aos meus pais por sempre estarem ao meu lado apesar da distância.

Ao Paulo, pela compreensão, apoio, amor e força necessária para lutar nas horas mais difíceis.

À toda minha família pelo carinho e a todos que me ajudaram de todas as formas.

À Universidade Federal de Lavras pela infra-estrutura e oportunidade de realização deste trabalho e ao pessoal da biblioteca pelas informações.

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

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Interação inseto-planta.....	3
2.2 Óleo essencial.....	4
2.2.1 Composição química	4
2.2.2 Utilização.....	7
2.3 Plantas inseticidas.....	8
2.3.1 Histórico	8
2.3.2 Vantagens da utilização de plantas inseticidas	11
2.3.3 Mecanismos de defesa de plantas a insetos	12
2.3.4 Óleos essenciais de plantas com atividade inseticida	14
2.3.5 Espécie <i>Thymus vulgaris</i>	17
2.3.6 Espécie <i>Achillea millefolium</i>	20
2.5 Insetos.....	23
2.5.1 Pulgão-verde.....	23
3.5.2 Lagarta-do-cartucho.....	24
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1 Material vegetal	26
3.2 Óleo essencial.....	26
3.2.1 Extração.....	26
3.2.2 Caracterização e identificação dos constituintes químicos	27
3.3 Atividade biológica dos óleos essenciais	28
3.3.1 Preparação das soluções	28
3.3.2 Inseto sugador (pulgão-verde)	28
3.3.2.1 Criação.....	28

3.3.2.2 Teste com chance de escolha.....	28
3.3.2.3 Teste sem chance de escolha	29
3.3.3 Inseto mastigador (lagarta-do-cartucho).....	30
3.3.3.1 Criação.....	30
3.3.3.2 Teste com chance de escolha.....	31
3.3.3.3 Teste sem chance de escolha	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 Caracterização química dos óleos essenciais.....	35
4.1.1 Análise dos óleos essenciais no Infravermelho	35
4.1.2 Análise dos dados de Espectrometria de Massa acoplada à Cromatografia gasosa	38
4.2 Avaliação dos óleos essenciais sobre o pulgão-verde <i>S. graminum</i>	47
4.3 Avaliação dos óleos essenciais sobre a lagarta-do-cartucho <i>S. frugiperda</i>	51
4.3.1 Teste com chance de escolha.....	51
4.3.2 Teste sem chance de escolha	53
5 CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Biossíntese dos terpenos	5
FIGURA 2. Estrutura química do isopreno (2-metil 1,3-butadieno)	6
FIGURA 3. Estruturas químicas de monoterpenos (A) e sesquiterpenos (B).....	6
FIGURA 4. Estrutura química da fisostigmina	9
FIGURA 5. Estruturas químicas do ácido N-metilcarbâmico, carbofuron e aldicarbe.....	9
FIGURA 6. Estrutura química do fenvaleratro.....	10
FIGURA 7. Estrutura química básica das piretrinas naturais	10
FIGURA 8. Estrutura química dos derivados piretróides onde: R ₁ = ácido crisantêmico e ácido pirétrico e R ₂ = piretrolona e cinerolona, presentes nas moléculas das piretrinas naturais (piretrina I, piretrina II, cinerina I e cinerina II).....	11
FIGURA 9. Estrutura química da azadiractina.....	12
FIGURA 10. Estrutura química do limoneno	15
FIGURA 11. Estrutura química do citronelal (A) 1,8-cineol (B) e L-mentol (C)	15
FIGURA 12. Estrutura química do cineol (A), funchona (B) e pulegona (C)	17
FIGURA 13. Estruturas químicas do α -terpineol (A), eugenol (B) e álcool cinâmico (C).....	17
FIGURA 14. Aspecto geral de <i>T. vulgaris</i> localizada no Horto de Plantas Medicinais da UFLA.....	18
FIGURA 15. Estruturas químicas do timol (A) e carvacrol (B)	19
FIGURA 16. Aspecto geral de <i>A. millefolium</i> localizada no Horto de Plantas Medicinais da UFLA.....	20
FIGURA 17. Estrutura química do azuleno.....	21
FIGURA 18. Estrutura química do borneol, cânfora, chamazuleno, β -pineno, nerolidol e 1,8-cineol.....	22
FIGURA 19. Espectro no infravermelho do óleo essencial de <i>A. millefolium</i>	35
FIGURA 20. Espectro no infravermelho do padrão timol (A) e do óleo essencial de <i>T. vulgaris</i> (B).....	37
FIGURA 21. Cromatograma do óleo essencial obtido da parte aérea de <i>A. millefolium</i> . 38	
FIGURA 23. Fragmentação do 7-etil-1,4-dimetilazuleno com perda de grupamento metila.....	39
FIGURA 24. Fragmentação do 7-etil-1,4-dimetilazuleno com perda de dois grupamentos metila e um átomo de hidrogênio.	40

FIGURA 25. A) Espectro de massas do germacreno-D referente ao tempo de retenção entre 23.185 e 23.248 minutos. B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do germacreno-D.....	41
FIGURA 26. Fragmentação do germaceno D com perda de grupamento isopropila.	42
FIGURA 27. Fragmentação do germaceno D com perda de grupamento isopropila e buteno.	42
FIGURA 29. A) Espectro de massas do timol referente ao tempo de retenção entre 18,142 e 18,321 minutos. B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do timol.	45
FIGURA 30. Fragmentação do timol com perda de grupamento metila.	46
FIGURA 31. Fragmentação do timol resultando no cátion tropílio.....	46
FIGURA 32. Fragmentação do timol resultando no pico m/z 115.	46
FIGURA 33. Área foliar de seção de milho tratada com óleo essencial de mil-folhas, óleo essencial de tomilho, óleo de nim comercial (Nim-I-GO [®]) e testemunha consumida por lagartas <i>S. frugiperda</i> em teste com chance de escolha. Médias com diferenças significativas pelo teste de Scott e Knott ($P \leq 0,05$).	51
FIGURA 35. Área foliar de seção de milho tratada com óleo essencial de mil-folhas, óleo essencial de tomilho, óleo de nim comercial (Nim-I-GO [®]) e testemunha consumida por lagartas <i>S. frugiperda</i> em teste sem chance de escolha. Médias com diferenças significativas pelo teste de Scott e Knott ($P \leq 0,05$).	54
FIGURA 36. Aspectos de lagartas <i>S. frugiperda</i> em bioensaios realizados com adição de mil-folhas a dieta artificial em teste sem chance de escolha. A. lagarta morta; B. má formação de pupa; C. adulto defeituoso.	60
FIGURA 37. Aspectos de lagartas <i>S. frugiperda</i> em bioensaios realizados com adição de tomilho a dieta artificial em teste sem chance de escolha. A. lagarta morta; B. má formação de pupa; C. adulto defeituoso.	60
FIGURA 38. Lagarta <i>S. frugiperda</i> com dificuldade de troca de instar e baixo desenvolvimento com a adição de óleo de nim comercial (Nim-I-GO [®]) na dieta artificial.....	60

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

IPP	isopentenilpirofosfato;
DMAPP	dimetilalilpirofosfato;
GPP	geranilpirofosfato;
DL ₅₀	dose letal para mortalidade de 50%;
LC ₅₀	concentração letal para mortalidade de 50%;
EPA	Environmental Protection Agency;
RED	Registration Eligibility Decision;
FDA	Food and Drug Administration;
PVC	policloreto de vinila;
BOD	câmara de incubação;
GC-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa;
IV	Infravermelho;
NP	número de pulgões;
E	eficiência (%);
DL	duração da fase larval (dias);
VL	viabilidade larval (%);
PP	peso de pupa (mg);
DP	duração da fase larval (dias);
VP	viabilidade da fase pupa (%);
RS	razão sexual;
VT	viabilidade total (%);
SAEG	Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas.

RESUMO

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

Com o intuito de identificar os constituintes majoritários e avaliar a atividade inseticida dos óleos essenciais das plantas *Achillea millefolium* e *Thymus vulgaris*, experimentos foram conduzidos, em laboratório, com o pulgão-verde *Schizaphis graminum* e lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda*. Para caracterização e identificação dos constituintes dos óleos essenciais, utilizou-se o espectrômetro de infravermelho e espectrômetro de massa acoplado a cromatógrafo a gás. A avaliação do efeito dos óleos no comportamento e biologia do pulgão-verde foi realizada por testes com chance de escolha e sem chance de escolha, por meio de imersão de seções de folha de couve nas soluções contendo óleo essencial das plantas. A lagarta-do-cartucho foi submetida ao teste com chance de escolha para avaliação da não-preferência e o efeito na biologia do inseto foi avaliado por meio de teste sem chance de escolha com dieta natural e dieta artificial. Os resultados obtidos permitiram verificar que o óleo de mil-folhas possui como constituintes majoritários o azuleno e germacreno-D e o óleo de tomilho o timol. Não houve efeito inseticida dos óleos essenciais de mil-folhas e tomilho a 0,015 % para o pulgão *S. graminum*. O óleo de mil-folhas demonstrou atratividade a *S. frugiperda* em teste com chance de escolha, provavelmente devido à presença de germacreno-D. Foi possível verificar que os óleos essenciais causam mortalidade na concentração de 150 ppm para a lagarta-do-cartucho em teste sem chance de escolha com dieta artificial reduzindo a viabilidade larval e de pupa, indicando que os óleos essenciais possuem potencial inseticida sobre a lagarta-do-cartucho em testes laboratoriais.

Comitê Orientador: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Orientador) e Jair Campos de Moraes – UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

CASTRO, Daniele Pereira. **Insecticide activity of essential oils of *Achillea millefolium* e *Thymus vulgaris* against *Spodoptera frugiperda* and *Schizaphis graminum***. 2004. 73 p. Dissertation (Master Program in Agriculture) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

This study aimed to analyze the composition and the insecticide effect of essential oils from *Achillea millefolium* and *Thymus vulgaris* over the green bug *Schizaphis graminum* and the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. Infrared and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) were used to identify the constituents of the essential oil. The effect of the essential oils in the treatment and biology of green bugs were assessed with free-choice after immersion of sections of cabbage leaves on the oil solution. Larvae of the fall army worm were subjected to free-choice tests, but the non-choice test were carried out in natural and artificial diet. Yarrow oil has azuleno and germacreno-D as main constituents and thyme oil has basically thymol in its composition. Both essential oils had no effect over adults of *S. graminum* at 0,015% of concentration. The fall armyworm was attracted to yarrow oil in non-choice test, probably because of the presence of germacreno-D. Both essential oils in the highest concentration (150 ppm) caused reduction in larvae viability and rearing viability in artificial diet. Yarrow and thyme essential oils have potential insecticide activity on the larvae of *S. frugiperda*.

*Guidance Committee: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Major Professor), and Jair Campos de Moraes – UFLA (Co-Adviser).

1 INTRODUÇÃO

O homem, desde a pré-história, procurou aproveitar os princípios ativos existentes nos vegetais de diferentes formas, embora de modo totalmente empírico ou intuitivo, baseado em descobertas ao acaso. Dentre essas substâncias, resultantes do metabolismo secundário das plantas, destacam-se os óleos essenciais, que são liberadas ao meio ambiente em quantidades variáveis.

O principal papel dos óleos essenciais está relacionado com sua volatilidade, pois devido a essa característica, agem como sinais de comunicação química e como arma de defesa. Assim, considera-se a existência de funções ecológicas, especialmente como inibidores de germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores e na proteção contra a perda de água.

A função desses compostos de comunicação com insetos, principalmente como mecanismo de defesa contra fitofagia, despertou o interesse de pesquisadores em utilizar esses princípios ativos para síntese de novos produtos inseticidas, obtenção de inseticidas naturais para aplicação direta no controle de pragas ou obtenção de cultivares resistentes por meio de programas de melhoramento de plantas.

A utilização de plantas como inseticidas vem conquistando mercado e a preferência dos produtores e consumidores, não apenas pelos benefícios à saúde em função da redução do uso de agroquímicos, como pela necessidade da adoção de práticas de menor impacto ao meio ambiente. Juntamente a essa necessidade, encontra-se uma diversidade biológica muito grande, com inúmeras plantas aromáticas a se conhecerem e aplicações a se pesquisarem, pois nestes encontra-se uma importante fonte de substâncias químicas com diferentes estruturas químicas e com diversas atividades contra insetos.

O presente trabalho teve por finalidade estudar a composição química e a atividade inseticida do tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e mil-folhas (*Achillea*

millefolium L.) em importantes pragas agrícolas de hábito sugador e mastigador, especialmente, o pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Rond. 1852) e a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Interação inseto-planta

Nos ecossistemas mais variados existe uma grande interação entre os seres vivos. Dessa interação resulta a evolução de algumas populações para sua sobrevivência. As plantas no seu ecossistema natural são capazes de se adaptar a diversos fatores abióticos e bióticos, como é o caso das plantas aromáticas que evoluíram através da comunicação com outros seres vivos por aromas ou semioquímicos. Estes são responsáveis pela interação entre organismos, acarretando estímulos de origem química ao receptor do aroma.

Dentre os semioquímicos, as substâncias responsáveis pela comunicação entre espécies diferentes são conhecidas como aleloquímicos. Estes são produzidos pelas plantas, com a finalidade de defesa contra pragas, fungos, vírus e bactérias, como inibidor de germinação de plantas competidoras (alelopatia), como atrativos para animais dispersores de sementes, proteção contra raios ultravioleta e atrativos para polinizadores (Santos, 2002).

Entre os aleloquímicos mais importantes, encontram-se os óleos essenciais, compostos voláteis e geralmente aromáticos. São produzidos no metabolismo secundário das plantas, variando com a intensidade e composição de acordo com a espécie e fatores do meio ambiente, sendo geralmente específica para um determinado órgão e característica para o estágio de desenvolvimento de cada espécie. Um exemplo clássico dessa variação ocorre na canela do Ceilão (*Cinnamomum zeylanicum* Breyne), na qual o composto aldeído cinâmico encontra-se em alta concentração no óleo extraído da casca, sendo que nas folhas o eugenol é o composto majoritário e na raiz é a cânfora (Saito & Scramim, 2000).

Dependendo da família, os óleos essenciais podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como pêlos glandulares (Lamiaceae), células

parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae), canais oleríferos (Apiaceae) ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae, Rutaceae) (Saito & Scramim, 2000). Embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos essenciais, sua composição pode variar segundo a localização. Cabe lembrar que a composição química de um óleo essencial extraído de um mesmo órgão, de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo e quanto à necessidade de defesa ou em proporção direta ao risco de ataque e importância dos tecidos atingidos (Simões & Spitzer, 2002).

2.2 Óleo essencial

Óleo essencial é definido como óleo volátil obtido de diferentes partes de plantas, por meio da técnica de destilação por arraste de vapor de água ou por expressão do pericarpo de frutas cítricas.

2.2.1 Composição química

Os produtos químicos produzidos pelos vegetais podem ser divididos em dois grandes grupos. O primeiro, essencial a todo ser vivo, é conhecido como metabólito primário incluindo os lipídeos, protídeos e glicídeos, com funções vitais bem definidas. O segundo, metabólito secundário, geralmente apresenta estrutura com baixo peso molecular, marcante atividade biológica e, diferentemente daqueles do metabolismo primário, é encontrado em concentração relativamente baixa. Embora não sejam necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para perpetuação de sua espécie, em seu ecossistema. Outra característica dos vegetais em relação ao metabolismo secundário é a elevada capacidade biossintética, tanto em relação ao número de substâncias produzidas quanto à sua diversidade numa mesma espécie (Poser & Mentz, 2002).

Dentre os metabólitos secundários os principais grupos de compostos encontrados com atividade biológica são os alcalóides, flavonóides, cumarinas, taninos, quinonas e óleos essenciais.

Os óleos essenciais são uma mistura complexa de componentes voláteis, com baixo peso molecular, sendo, na maioria das vezes, constituídos por moléculas de natureza terpênica. Os compostos terpenóides, assim como os demais metabólitos secundários, são originados de rotas alternativas do metabolismo primário, em resposta à adaptação do organismo ao meio em que vive. São derivados do acetato, via ácido mevalônico que, ao sofrer fosforilação e descarboxilação, gera o isopentenilpirofosfato (IPP) que se isomeriza a dimetilalilpirofosfato (DMAPP). A condensação desses dois isômeros, seguida de posteriores incorporações de unidades de isopentenilpirofosfato, leva a formação de todos os compostos terpenóides (Figura 1) (Santos, 2002; Cardoso et al., 2001).

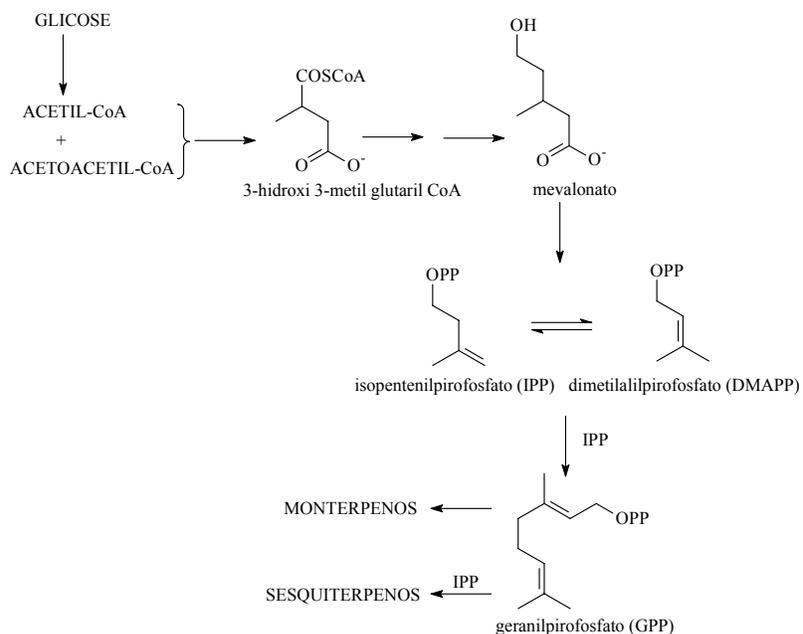


FIGURA 1. Biossíntese dos terpenos.

Os óleos essenciais são formados por misturas complexas de fenilpropanóides ou terpenóides, prevalecendo os últimos. Normalmente apresentam um composto majoritário. Os terpenos são constituídos por duas ou mais unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno) (Figura 2) (Saito & Scramim, 2000).

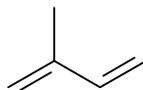


FIGURA 2. Estrutura química do isopreno (2-metil 1,3-butadieno).

Os compostos terpênicos mais frequentemente encontrados nos óleos voláteis são os monoterpenos (90% dos óleos) e os sesquiterpenos (Figura 3) (Simões & Spitzer, 2002; Cardoso et al., 2000).

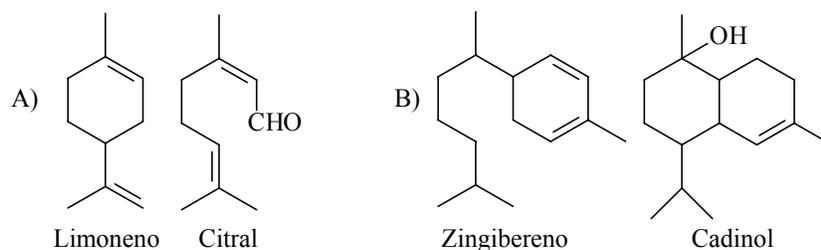


FIGURA 3. Estruturas químicas de monoterpenos (A) e sesquiterpenos (B).

Com a incrível evolução das técnicas cromatográficas, principalmente a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, um grande número de componentes com atividade inseticida de óleos essenciais pode ser identificado, para posteriormente ser isolado. A identificação dessas substâncias auxilia os pesquisadores de melhoramento genético na busca de genótipos mais resistentes a bactérias, fungos e insetos, proporcionando dados que podem auxiliar no combate específico de predadores de culturas destinadas à

alimentação humana. Pode-se utilizar para o controle de pragas a aplicação direta do óleo essencial, ou do princípio ativo isolado e/ou como base para descoberta de novos produtos sintéticos.

2.2.2 Utilização

O óleo essencial antes de ser estudado cientificamente, foi muito utilizado pelos índios e ainda é utilizado na cura de doenças, principalmente pelo fato de possuir efeito contra bactérias, fungos, etc. Pela essência e sabor/odor muitas vezes agradável, foi utilizado para aromatizar ambientes e temperar alimentos há muitos anos atrás.

Possuem diversas aplicações industriais como na fabricação de perfumes, na indústria de processamento de alimentos, na medicina com a fabricação de homoterápicos, tanto para homens como para animais, e na fabricação de novos pesticidas.

Na agricultura, o conhecimento de que alguns dos compostos presentes nos óleos essenciais podem atuar como antibacterianos e outros como repelentes ou tóxicos para os herbívoros, tem estimulado pesquisas objetivando o uso das plantas aromáticas para proteger culturas e produtos agrícolas armazenados, sem contaminar os alimentos com pesticidas sintéticos (Cardoso et al., 2000).

Secoy & Smith (1983) realizaram um estudo sobre plantas com toxicidade a vários seres vivos, de peixes a bactérias. Estas estão sendo investigadas para uso em larga escala como inseticida. Desse trabalho obteve-se uma lista de mais de 700 espécies de plantas com potencial para controle de pragas agrícolas e domissanitárias.

2.3 Plantas inseticidas

2.3.1 Histórico

Quando os conquistadores espanhóis aportaram no Novo Mundo, em torno de 1500, observaram índios que utilizavam um inseticida que era o pó das sementes de uma planta bulbosa chamada de *crbadijla*. A sabadilha (*Schoenocaulon officinale*) é na verdade uma fonte de alcalóides veratrínicos que foi muito utilizada na Europa com o nome de heléboro (Vieira et al., 2002).

No fim do século XVII, na França, a nicotina, obtida de espécies de *Nicotiana*, foi empregada como inseticida pela primeira vez sob a forma de lavagem de fumo. Esse alcalóide foi isolado juntamente com outras substâncias inseticidas; nornicotina e anabasina. Em alguns locais, principalmente em agricultura sustentável, se encontra muito o controle de insetos com folhas de fumo (Penteado, 1999; Vieira et al., 2002).

Outra classe de substâncias extraídas de plantas muito utilizada foi a dos rotenóides. Um dos primeiros relatos do uso de rotenóides em práticas agrícolas data de 1919, na Guiana Holandesa, com a aplicação de timbós (*Lonchocarpus*) no controle às formigas *Dolichorus bidens*. A rotenona, encontrada nos timbós, atua na cadeia respiratória levando o inseto a asfixia e conseqüentemente morte (Larini, 1999; Vieira et al., 2002).

Como exemplos de plantas que permitiram a obtenção de novos produtos sintéticos, podem ser citados *Physostigma venenosum* (Fabaceae), cujos compostos secundários, especialmente a fisostigmina, (Figura 4) foram tomados como modelo para a síntese dos carbamatos, e *Chrysanthemum cinerariaefolium*, conhecido como piretro ou pó-da-Pérsia, matéria-prima da qual se extraem as piretrinas, precursores dos piretróides (Gallo et al., 2002).

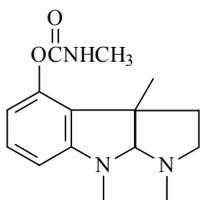


FIGURA 4. Estrutura química da fisostigmina

Os compostos carbamatos, assim como a fisostigmina, são ésteres do ácido N-metilcarbâmico (Figura 5) ou N,N'-dimetilcarbâmico. Apesar de ser sintetizado a partir de uma estrutura natural alguns inseticidas dessa classe são altamente tóxicos a mamíferos, como o aldicarbe (Temik) (Larini, 1941).

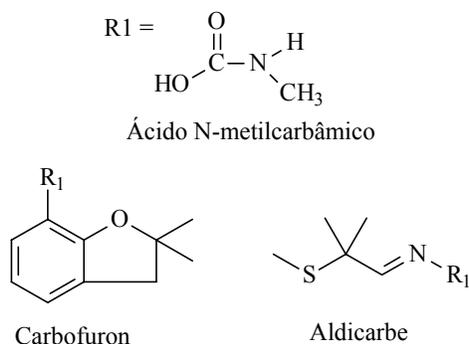


FIGURA 5. Estruturas químicas do ácido N-metilcarbâmico, carbofuron e aldicarbe.

Entretanto, as piretrinas extraídas das flores do crisântemo, *C. cinerariaefolium*, possuem baixa toxicidade a animais de sangue quente sendo utilizadas como modelo para síntese dos inseticidas conhecidos como piretróides. Os piretróides praticamente dominam o mercado de inseticidas utilizados para fins residenciais. A toxicidade do composto fenvaleratro (Figura 6), piretróide sintético, é de 450 mg/kg em ratos e das piretrinas naturais é de 820 mg/kg (Roman & Oliveira, 1983).

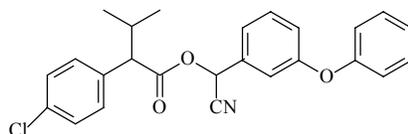


FIGURA 6. Estrutura química do fenvalerato.

A atividade inseticida do piretro deve-se à presença das piretrinas, presentes nas flores numa concentração de 0,63-2,18%. São constituídas por piretrinas I e II e cinerinas I e II (Figura 8). Estes possuem estruturas semelhantes variando na ramificação: ácido crisantêmico ou ácido pirétrico (R_1); piretrolona ou cinerolona (R_2) do esqueleto base das piretrinas (Figura 7). As piretrinas diferem entre si apenas na intensidade do modo de ação (Ronan & Oliveira, 1983).

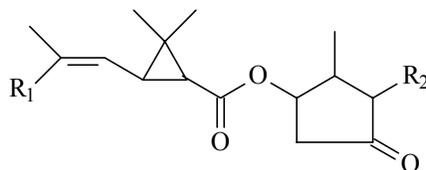


FIGURA 7. Estrutura química básica das piretrinas naturais.

Os produtos naturais inseticidas foram muito utilizados até a década de 40, quando os produtos sintéticos passaram a ganhar espaço a partir da II Guerra Mundial, devido a uma explosão no desenvolvimento da síntese orgânica. Estes mostraram-se muito mais potentes e menos específicos que os naturais, até então utilizados no controle de pragas agrícolas, e foram quase totalmente substituídos.

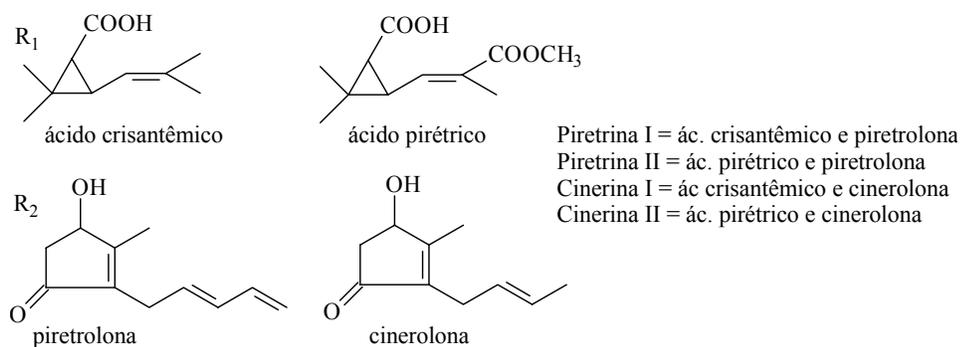


FIGURA 8. Estrutura química dos derivados piretróides onde: R_1 = ácido crisantêmico e ácido pirétrico e R_2 = piretrolona e cinerolona, presentes nas moléculas das piretrinas naturais (piretrina I, piretrina II, cinerina I e cinerina II).

2.3.2 Vantagens da utilização de plantas inseticidas

Quando se utilizam produtos vegetais com atividade inseticida, os seguintes efeitos sobre os insetos podem ser observados: repelência, inibição da oviposição, inibição da alimentação, inibição do crescimento, alterações do sistema hormonal, alterações morfogénicas, alterações no comportamento sexual, esterilização dos adultos, mortalidade na fase imatura ou adulta, entre outros. Dessa forma, a mortalidade do inseto é apenas um dos efeitos e nem sempre esse deve ser o objetivo, que na verdade consiste em reduzir ou, se possível, impedir o crescimento da população da praga (Gallo et al., 2002).

Dentre as plantas inseticidas atualmente estudadas, a meliácea *Azadirachta indica*, conhecida no Brasil por “nim, nime ou nime asiático”, é considerada a mais importante e promissora. Apresenta uma série de compostos, dentre os quais a azadiractina (Figura 9) que ocorre em maior concentração e apresenta grande atividade tóxica contra insetos (Brechelt, 2001; Gallo et al., 2002).

Segundo Vieira et al. (2002), a azadiractina interfere na metamorfose em insetos, impedindo o desenvolvimento da ecdise, apresentando, ainda, atividade fago-inibidora.

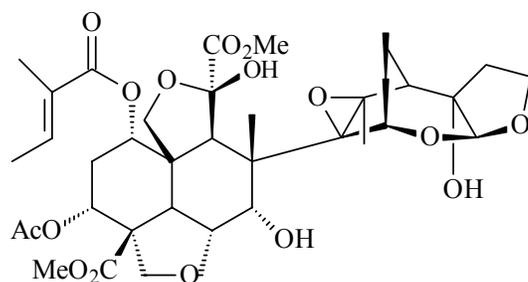


FIGURA 9. Estrutura química da azadiractina.

Apesar dos inseticidas sintéticos com diferentes modos de ação estarem disponíveis aos produtores rurais, o grande crescimento do cultivo orgânico e a alta demanda dos consumidores por este tipo de alimento gerou um grande interesse econômico por inseticidas naturais. Estes possuem algumas vantagens que se adaptam ao cultivo orgânico e nova filosofia de proteção ambiental. Dentre estas, citam-se: menor desenvolvimento de resistência dos insetos aos inseticidas pelo complexo de princípios ativos presentes nas plantas; baixa toxicidade a outros insetos úteis (polinizadores e inimigos naturais de insetos pragas), aves, peixes e mamíferos, incluindo o ser humano (Vieira et al., 2002; Gallo et al., 2002; Saito & Scramin, 2000).

2.3.3 Mecanismos de defesa de plantas a insetos

Uma planta ou variedade possui diversos mecanismos para resistir ao ataque de uma praga. Esses meios constituem os tipos de resistência. Painter (1951) propôs a classificação de resistência em três tipos: não-preferência para alimentação, oviposição ou abrigo (antixenose); antibiose (efeito adverso da

planta sobre o metabolismo do inseto) e tolerância (regeneração ou capacidade de suportar o ataque do inseto).

O termo não-preferência exprime uma reação comportamental do inseto em relação à planta. Esta pode ocorrer principalmente através dos estímulos de atração ou repelência seguidos por efeito estimulante ou deterrente.

Os repelentes são substâncias de baixo peso molecular, geralmente voláteis, que afastam os insetos da fonte produtora ou protegida. São substâncias normalmente conhecidas como aromáticas, essências ou óleos essenciais. Como exemplos o óleo de citronela, pinheiro e eucalipto, que possuem em sua composição citronelal, citral, α e β -pineno e eucaliptol, reconhecidamente repelentes a diversas espécies de insetos, incluindo moscas e mosquitos de importância médico-veterinária e pragas de importância agrícola (Gallo et al., 2002). Estes recomendam a utilização de folhas secas de eucalipto-cheiroso (*Eucalyptus citriodora*) como repelente para gorgulhos (*Sitophilus* spp.) que atacam grãos armazenados. Indicam também a aplicação de pós obtidos de casca de laranja e de folhas de erva-de-santa-maria como repelente desse grupo de insetos e de carunchos em feijão armazenado.

Uma planta resistente pelo mecanismo de antibiose afeta direta ou indiretamente o potencial de reprodução do inseto, uma vez que os efeitos normalmente observados, conforme muitos exemplos existentes na literatura, são os seguintes: mortalidade das formas jovens, mortalidade na transformação para adulto, redução do tamanho e peso dos indivíduos, redução da fecundidade, alteração na proporção sexual e alteração no tempo de vida.

Já plantas resistentes por tolerância possuem a capacidade de suportar o ataque da praga, quer seja através da regeneração dos tecidos destruídos, emissão de novos ramos ou perfilhos, ou por outro meio qualquer, de forma que aquele ataque não chega a provocar queda significativa na qualidade e quantidade de sua produção.

Portanto, plantas que produzem óleos essenciais para sua defesa podem ser consideradas plantas resistentes pelo mecanismo de não-preferência e/ou antibiose, por serem tais óleos substâncias que atuam no comportamento ou metabolismo do inseto. Essas substâncias responsáveis pelas interações químicas dos organismos são denominadas aleloquímicos. Dois tipos de aleloquímicos são de interesse particular para as relações inseto/planta: os alomônios, que favorecem o emissor (planta hospedeira), funcionando como substância de defesa e os cairomônios, que favorecem o receptor (inseto fitófago). Como exemplo de alomônios podemos citar a ação repelente e deterrente da tomatina (em tomateiro) para *Leptinotarsa decemlineata* e com efeito negativo para o metabolismo dos insetos podem ser citados o gossipol (em algodoeiro) que afeta *Heliothis* spp. e várias outras pragas dessa cultura, e os ácidos hidroxâmicos (especialmente DIMBOA, em gramíneas), que afetam *Ostrinia nubilalis* e *Schizaphis graminum* (Gallo et al., 2002).

2.3.4 Óleos essenciais de plantas com atividade inseticida

A partir desse conceito de proteção fitossanitária, pesquisadores passaram a identificar a ação inseticida dos óleos essenciais de várias plantas. Desse estudo, encontraram-se inúmeros óleos essenciais de várias plantas com potencial inseticida.

Destas pode-se destacar o óleo essencial de citros, contendo limoneno (Figura 10) como princípio ativo, contra lagarta-do-cartucho, pernilongo, pragas de grãos armazenados e besouros. Seu efeito consiste na repelência e redução na ovoposição. A molécula tem provado ser tóxica e deterrente a espécies de pragas de produtos armazenados como *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) e *Sitophilus oryzae* (L., 1763) (Su, 1972; Su et al., 1976).

O limoneno, um terpenóide isolado de espécies de citros, é deterrente alimentar para *Heliothis zea*, este também é efetivo para *Leptinotarsa*

decemlineata (Alford et al., 1987). Para estes, o efeito demonstrado por limonóides não é de mortalidade direta de pragas fitófagas, porém diminui cronicamente sua taxa crescimento. Os limonóides de *Citrus paradisi* previnem alimentação de *Spodoptera litura*, *S. frugiperda* e *Trichosplusia ni* (Altieri et al., 1984).

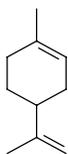


FIGURA 10. Estrutura química do limoneno.

Estudos de Penteadó (1999) indicam o uso do óleo de eucalipto no controle de pragas de produtos armazenados como *Tribolium*, *Sitophilus* e *Prostephanus*. Segundo este, os constituintes citronelal e 1,8-cineol é que vão atuar nesse processo biológico (Figura 11).

Esses monoterpenos têm sido muito estudados no controle de pragas de grãos armazenados, causando alta mortalidade e moderada repelência. Trabalhos de Aggarwal et al. (2001), indicam o L-mentol como um potente inseticida para pragas de grãos armazenados (Figura 11). É altamente tóxico em aplicação de contato e fumigação, além de ser forte repelente. Controla adultos de *Tribolium castaneum* (Herbst) com DL_{50} igual a 108.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de inseto por aplicação tópica, afeta a oviposição e emergência de adultos.

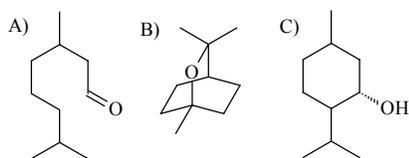


FIGURA 11. Estrutura química do citronelal (A) 1,8-cineol (B) e L-mentol (C).

Traboulsi et al. (2002) encontraram efeito inseticida sobre larvas de *Culex pipiens molestus* Forskal nos óleos essenciais de *Myrtus communis* com

maior potencial, seguido por *Origanum syriacum* L., *Mentha microcorphylla* Koch, *Pistácia lentiscus* L. e *Lavandula stoechas* L. com LC₅₀ igual a 16, 36, 39, 70 e 89 mg/litro, respectivamente.

De acordo com Kéíta et al. (2000), o óleo essencial de plantas do gênero *Ocimum* aplicadas na concentração de 40 µL por fumigação causaram 94 % de mortalidade de adulto após 48 horas de aplicação, redução na oviposição e na emergência de adultos *C. maculatus*.

Bouda et al. (2001), trabalhando com óleos essenciais de *Ageratum conyzoides*, *Chromolaena odorata* e *Lantana camara*, certificaram que estes controlaram *S. zeamais* causando mortalidade nos adultos, com DL₅₀ = 0,09% em 24 h.

Os óleos essenciais de *Cinnamomum cassia*, *Cochleria aroracia* e *Brassica juncea*, aplicados na concentração de 0,7 mg/cm² de papel de filtro, foram altamente tóxicos a adultos do besouro *Lasioderma serricorne* (F.) em 24 horas após aplicação (Kim et al., 2001).

A atividade inseticida em pragas de grãos armazenados é muito estudada pela volatilidade e lipofilicidade desses compostos, funcionando como fumigante e causando efeito em suas funções fisiológicas, sendo também saudável já que a aplicação é direta sobre os grãos. Lee et al. (2003) verificaram o efeito fumigante de 20 monoterpenóides, sendo os mais promissores o cineol, fenchona e pulegona (Figura 12). Estes causaram 100% de mortalidade na concentração de 50 µg/mL em cinco espécies de insetos (*Sitophilus oryzae*, *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Musca domestica* e *Blattella germanica*).

Os terpenos eugenol, álcool cinâmico e α-terpineol (Figura 13) demonstraram efeito inseticida sobre a barata americana nas concentrações 0,0047 mg/cm², 0,182 mg/cm² e 0,325 mg/cm² respectivamente, e efeito

sinergista na mistura dos componentes em proporções iguais com LC_{50} de 0,075 mg/cm² (Enan, 2001).

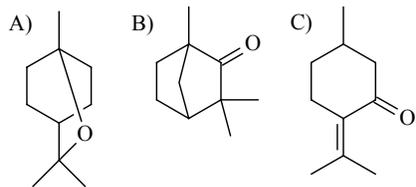


FIGURA 12. Estrutura química do cineol (A), fenchona (B) e pulegona (C).

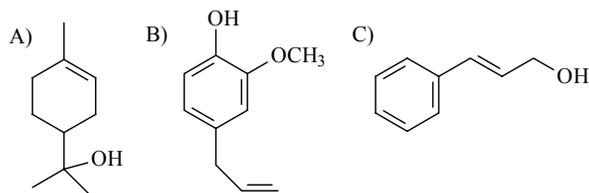


FIGURA 13. Estruturas químicas do α -terpineol (A), eugenol (B) e álcool cinâmico (C).

A grande variedade de substâncias presentes na flora continua sendo um enorme atrativo na área de controle de insetos. Inúmeras pesquisas estão sendo realizadas no intuito de fornecer aos produtores pesticidas mais seguros ao meio ambiente e mais específicos a determinada praga, que sejam de uso economicamente viável.

2.3.5 Espécie *Thymus vulgaris*

A espécie *Thymus vulgaris* L. é uma planta aromática pertencente à família Lamiaceae, cultivada na Europa, especialmente na Hungria, Alemanha, Espanha e sul da França. É conhecida no Brasil como tomilho, arçã, arçanha, poejo, segurelha, tимо, tomilho-ordinário, tomilho-vulgar. Adapta-se aos mais variados climas, porém os produtos de maior qualidade são obtidos em regiões

temperadas quentes, cujas temperaturas giram em torno de 20 °C (Silva Júnior & Verona, 1997).

A planta é descrita como subarborescente perene, ereta, ramificada, entouceirada, alcançando de 15 a 30 cm de altura. Forma uma moita de caule tortuoso muito ramificado, lenhoso e rasteiro. Possui folhas pequenas (com folíolos de 6 mm de comprimento) opostas de forma variada e quase sésseis, levemente pubescentes e de coloração mais clara na face inferior. Apresenta flores brancas a rosadas, pequenas, axilares ou terminais (Figura 14) (Lorenzi & Matos, 2002; Silva Júnior & Verona, 1997).



FIGURA 14. Aspecto geral de *T. vulgaris* localizada no Horto de Plantas Medicinais da UFLA.

Suas folhas e ramos novos, de sabor levemente amargo e picante e com aroma canforáceo, são amplamente empregadas na culinária como condimento. É também empregado na indústria de perfumes e como aromatizante natural de bebidas (licores). Na medicina é considerada adstringente e espectorante, que melhora a digestão, relaxa espasmos e controla a tosse, com propriedades fortemente antiséptica e antifúngica (Lorenzi & Matos, 2002).

Seu óleo essencial é rico em timol e carvacrol (Figura 15), potentes bactericidas e fungicidas reconhecidos cientificamente (Reddy et al., 1998; Essawi & Srour, 2000). Outros compostos fenólicos, como taninos e flavonóides

já foram encontrados em extratos da planta responsáveis pelas atividades antioxidantes, expectorantes, digestivos e antiinflamatórios associados à planta (Shan, 2002; Economou et al., 1991).

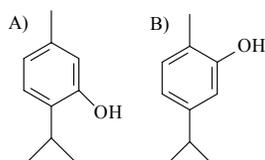


FIGURA 15. Estruturas químicas do timol (A) e carvacrol (B).

Diversas atividades biológicas são atribuídas a *T. vulgaris* pelo alto conteúdo de fenólicos vegetais. Economou et al. (1991), pesquisando a atividade biológica dos extratos metanólicos das ervas da família Lamiaceae, entre elas *T. vulgaris*, observaram forte atividade antioxidante.

Em 1993 o composto timol foi registrado na United States Environmental Protection Agency (EPA) como ingrediente ativo de produtos inseticidas não tóxicos à saúde humana e ao meio ambiente. Na ocorrência descrita pela Registration Eligibility Decision (RED) o timol é considerado ingrediente ativo para produtos pesticidas como repelente, fungicida, desinfetante médico, tuberculocidas e virocidas. Consta também pela Food and Drug Administration (FDA) que o timol, presente no óleo essencial de tomilho e utilizado como condimento é seguro para consumo humano, podendo ser utilizado como aditivo em alimentos.

Como inseticida, inúmeros trabalhos relatam o efeito do tomilho e seus constituintes em diversas espécies de insetos. Redução no desenvolvimento e oviposição de lagartas *Spodoptera littoralis*; controle de larvas (3º instar) de *Lucilia sericata* (Farag et al., 1994; Morsy et al., 1998; Isman et al., 2001; Tsoukatou et al., 2001).

2.3.6 Espécie *Achillea millefolium*

Planta medicinal da família Asteraceae, conhecida como mil-folhas, milefólio, aquiléia, erva-carpinteiro, mil-em-ramas e novalgina. O nome latino do gênero deriva do herói grego Aquiles que a utilizou para estancar as hemorragias de seus guerreiros em uma de suas batalhas e, *millefolium* significa “mil folhas”, devido ao grande número de minúsculos folíolos (folhas) que possui (Lorenzi & Matos, 2002; Teske & Trentini, 1995).

A espécie é perene, herbácea, com rizoma delgado e fibroso, que se enraíza formando novas cepas. Cresce de 30 a 70 cm, com folhas pecioladas, opostas, alternas e peninérveas. Folhas compostas, finamente pinadas, de 5 a 8 cm de comprimento. A inflorescência é do tipo corimbo, formando pequenos capítulos florais dispostos em grupos aplanados. As flores são pedunculadas e pequenas, com cálice tubular, são geralmente brancas, em capítulos reunidos em uma panícula terminal. Multiplica-se por estacas e por divisão de touceiras (Figura 16) (Lorenzi & Matos, 2002).



FIGURA 16. Aspecto geral de *A. millefolium* localizada no Horto de Plantas Medicinais da UFLA

É uma planta de clima temperado quente a subtropical. Não se adapta a regiões com excesso de precipitações e prefere a luz plena. A planta é mais pronunciadamente aromática em maiores altitudes. Adapta-se bem em solos

areno-argilosos, permeáveis, férteis e bem drenados e não ácidos, tolerando solos pobres em nutrientes, mas não suporta solos encharcados (Hertwig, 1991).

O complexo *A. millefolium* é um grupo de espécies dificilmente distinguíveis entre si, o qual gera um problema taxonômico complexo, principalmente devido a poliploidia e ao polimorfismo de espécies e subespécies. Uma separação taxonômica formal do complexo com base na ploidia ou variações morfológicas não é praticável devido às hibridações e às delimitações morfológicas de raças tetraplóides ou hexaplóides adjacentes (Scheffer, 1991).

Existem inúmeros trabalhos referindo-se à espécie *A. millefolium* com grandes variações na composição química do óleo essencial. A presença do azuleno (Figura 17), responsável pela coloração azul do óleo essencial, varia entre as espécies. Muitas pesquisas já foram realizadas para identificar e separar os 12 quimiotipos existentes na Europa Central (Saukel & Langer, 1992a, b).

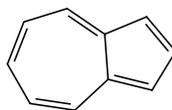


FIGURA 17. Estrutura química do azuleno.

Pesquisas de Oswiecimska (1968) correlacionam o nível de ploidia, características morfológicas e composição química do óleo essencial. O autor verificou que os indivíduos tetraplóides contêm procamazuleno enquanto os hexaplóides e octaplóides não, sendo confirmado posteriormente por Haggag et al. (1975). Recentemente, para colaborar com a complexa identificação de espécies do gênero *Achillea*, pesquisas foram realizadas em relação a quimiotaxonomia utilizando a presença de flavonóides e sesquiterpenos (Krenn, 1997; Kubelka, 1999), outros se basearam em análises de DNA, cultura de

tecidos e cruzamentos genéticos (Wallner et al., 1996; Wawrosch et al., 1997; Vetter et al., 1997).

As plantas deste gênero possuem óleo essencial com derivados monoterpênicos e sesquiterpênicos, dos quais ressaltam quatro grupos contendo borneol e cânfora; chamazuleno e β -pineno; trans-nerolidol; 1,8-cineol (Figura 18) (Mockute & Judzentiene, 2003). Outros compostos em concentrações variáveis são encontrados: sabineno, cariofileno, allo-ocimeno, tujona, δ -cadineno, canfeno, mirceno, limoneno, p-cimeno, azuleno, eugenol, germacreno, terpene-4-ol, linalol (Maffei et al., 1994; Kokkalou et al., 1992; Rohloff et al., 2000; Lourenço et al., 1999).

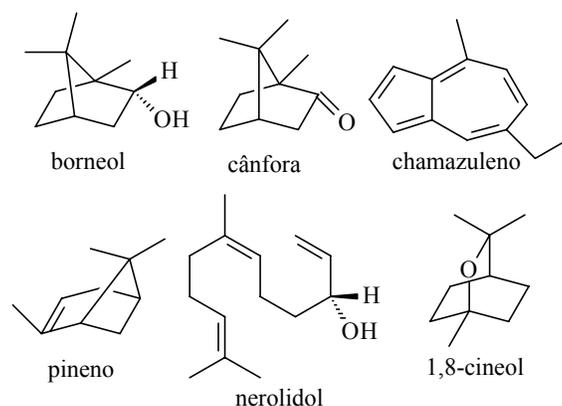


FIGURA 18. Estrutura química do borneol, cânfora, chamazuleno, β -pineno, nerolidol e 1,8-cineol.

A variação da quantidade de óleos essenciais com base no peso seco varia em cada parte da planta com 0,18% no caule, 0,41% nas folhas e 1,67% nas flores. O teor médio de óleo essencial, de cor azulada, devido ao azuleno, é de 0,5 a 0,8% (Silva Júnior & Verona, 1997).

Além de seu uso ornamental é empregada na medicina tradicional como diurética, antiinflamatória, antiespasmódica e cicatrizante (Lorenzi & Matos,

2002). É utilizada em produtos para a cosmética cutânea, produtos infantis e produtos para a higiene bucal por possuir propriedades antiflogísticas. Encontra-se na lista de plantas saudáveis ao consumo humano na Food and Drug Administration (FDA) sem nenhum relato de toxicidade, sendo largamente utilizada na fabricação de licores e aromatizantes.

No aspecto agrônômico existem alguns relatos de utilização do extrato da planta para controle de *Aedes aegypti*, mosca doméstica e larvas de carrapatos *Ixodes redikorzevi*, *Haemaphysalis punctata*, *Rhipicephalus rossicus* (Thorsel & Tunon 1998; Srbova & Palaveyeva¹ citados por Jacobson 1975; Reznik & Imbs² citados por Jacobson 1975).

2.5 Insetos

2.5.1 Pulgão-verde

O pulgão *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852) (Ster,orrhyncha, Aphididae) foi relatado pela primeira vez no Brasil, na cultura do alpiste e outras gramíneas não cultivadas, no Estado do Rio Grande do Sul (Lima, 1942). Sua presença na cultura do sorgo foi registrada por Galli et al. (1981), que previu a possibilidade de se tornar uma importante praga dessa cultura.

Para as condições brasileiras, esses afídeos se reproduzem por partenogênese telítoca e de forma vivípara, sendo que os indivíduos observados nas plantas são geralmente fêmeas ápteras ou aladas. A temperatura ótima de desenvolvimento varia entre 21 e 24 °C, podendo ocorrer, no período de uma

¹ SRBOVA, S.; PALAVEYEVA, M. Study of the insecticidal effect of some plants. Journal Hyg. **Epidemiology, Microbiology and Immunology**, v. 6, p. 498- 502, 1962.

² REZNIK, P. A.; IMBS, Y. G. Ixodid ticks and phytoncides. **Zoology Zhurnal**, v. 44, p. 1861-1864, 1965.

semana, quatro instares e, no período de um mês, podem ocorrer de três a quatro gerações (Pfadt, 1978).

São insetos de corpo oval, de coloração verde-clara brilhante, com uma faixa longitudinal verde-escura no dorso e antenas escuras com exceção dos três segmentos basais. Apresenta sífúnculos mais claros que o corpo com ápice preto. É encontrado nos colmos e folhas de trigo (Gallo et al., 2002).

Esse afídeo normalmente infesta a face inferior das folhas baixas das plantas; entretanto, as injúrias podem ser observadas na face superior. Segundo Gallo et al. (2002), é uma praga importante para as culturas do sorgo, trigo, aveia e cevada. Afeta a cultura em todas as fases fenológicas alimentando-se da seiva, e conseqüentemente causando limitação de água e nutrientes, destruição enzimática pela injeção de toxinas e possível transmissão de viroses ou predispor a planta a doenças.

3.5.2 Lagarta-do-cartucho

A *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) pertence à ordem Lepidoptera, família Noctuidae, conhecida como lagarta-do-cartucho ou lagarta-dos-milharais. As mariposas põem de 1500 a 2000 ovos na página superior das folhas. Após três dias nascem as lagartinhas, que passam a alimentar-se, de preferência, das folhas mais novas do milho, raspando-as. Nessa fase, atacam todas as folhas centrais, destruindo-as completamente. A duração do período larval é de 12 a 30 dias, findo o qual a lagarta mede de 40 a 50 mm de comprimento. Sua coloração varia de cinza-escuro a quase preto. Apresenta a faixa dorsal com pontos pretos (pináculos) na base das cerdas. A cabeça é preta com uma linha clara em forma de Y, bastante visível (Gallo et al., 2002; Bianco, 1991).

Devido ao canibalismo é comum encontrar-se apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho. Podem-se encontrar lagartas em instares diferentes

num mesmo cartucho, separadas pelas lâminas das folhas. Findo o período larval as lagartas penetram no solo, onde se transformam em pupas de coloração avermelhada, medindo cerca de 15 mm de comprimento. O período pupal é de 8 dias no verão, sendo de 25 no inverno, surgindo, após este, o adulto. A mariposa mede cerca de 35 mm de envergadura, com asas anteriores pardo-escuras e as posteriores branco-acizentadas. Ataca inúmeras gramíneas de importância agrícola, como milho, cana-de-açúcar, arroz, trigo e sorgo, como praga tardia ataca também o algodoeiro; sendo que para o milho é considerada a praga mais importante por sua ocorrência generalizada e por danificar a cultura nos seus diferentes estádios fisiológicos (Gallo et al., 2002).

Ataca o cartucho do milho, chegando a destruí-lo completamente. Pode reduzir, por meio da destruição das folhas, a produção do milho em até 20 %, sendo o período crítico de seu ataque a época próxima do florescimento. A época de maior suscetibilidade das plantas ao ataque da lagarta-do-catucho, ocorre por volta dos 40 dias após o plantio, quando a planta apresenta de 8 a 10 folhas (Cruz & Turpin, 1982).

Pesquisas mostram que, em períodos de seca e especialmente com o milho “safrinha”, suas populações aumentaram e seu ataque intensificou. Atualmente, além da folha, também ataca a espiga no final do ciclo da cultura, com uma voracidade às vezes maior até que a lagarta-da-espiga (Gallo et al., 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

O material vegetal foi coletado no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As coletas foram realizadas sempre de manhã, em torno de 8 horas, com temperatura amena e ausência de chuva. Para o maior rendimento de óleo essencial foram realizadas várias coletas no período de outubro a dezembro de 2002. Utilizou-se material vegetal fresco coletando-se toda a parte aérea das plantas para maior rendimento.

As plantas foram identificadas taxonomicamente por meio de comparação com material existente no Herbário ESAL do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Uma exsicata de cada espécie coletada foi incorporada ao acervo do referido herbário. O número do registro para a espécie *A. millefolium* é 17496 e para *T. vulgaris* 17057. Como meio de comparação a confirmação foi também feita no Jardim Botânico, no Rio de Janeiro.

3.2 Óleo essencial

3.2.1 Extração

O método de extração utilizado foi o de arraste a vapor, utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado (Craveiro, 1981). O material fresco de *T. vulgaris* e *A. millefolium* foi picado para aumentar a superfície de contato e obtenção de maior quantidade de óleo essencial.

A extração foi realizada por 1,5 hora, em temperatura constante, mantendo a ebulição da solução. Decorrido esse tempo, coletou-se o hidrolato. Este foi particionado com diclorometano em funil de separação para eliminação da fase aquosa e recuperação do óleo essencial. A fase orgânica (óleo essencial e

diclorometano) foi mantida em repouso por 24 horas com sulfato de magnésio anidro. Em seguida este foi filtrado.

Para evaporação do solvente (diclorometano) a solução obtida foi levada a um evaporador rotatório do tipo Büchi R-114 sob pressão entre 200 e 300 mmHg. O óleo essencial obtido foi colocado em vidro previamente seco e pesado, deixado em estufa de 35°C até peso constante.

O processo de extração de óleo essencial foi repetido inúmeras vezes até obtenção de material suficiente para identificação química e realização dos bioensaios.

3.2.2 Caracterização e identificação dos constituintes químicos

Para caracterização e identificação dos constituintes, foram realizadas análises em espectrofotômetro de Infravermelho Shimadzu FTIR – 8201A, utilizando-se como suporte janelas de NaCl e cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa para identificação dos compostos majoritários do óleo essencial.

O cromatógrafo utilizado foi o modelo HP-5890 com módulo de injeção com razão de divisão (split) de 1:2. A coluna utilizada foi a HP Ultra 2 (5%fenil-metil-siloxano, 25 m x 0,2 mm x 0,33 µm). A programação da coluna foi de dois minutos com temperatura inicial do forno de 45° C, seguida de 5 °C/min até 280° C com tempo final de 10 minutos. O fluxo da coluna foi de 1 ml/min e o gás de arraste utilizado foi o Hélio. A temperatura do injetor foi de 250° C e a temperatura da interface de 280 °C. O espectro de massas foi obtido através do impacto de elétrons utilizando-se 70 e-V de energia ionizável. Os compostos foram identificados através de seus espectros de massas comparados com aqueles existentes no banco de dados do aparelho Wiley 275.L.

3.3 Atividade biológica dos óleos essenciais

3.3.1 Preparação das soluções

Os óleos essenciais foram diluídos em etanol e água destilada na proporção de 1:1, para melhor homogeneização. Foram armazenados sob baixa temperatura (4 °C) e ausência de luminosidade (Traboulsi et al., 2002).

O óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) foi obtido da empresa Nim-I-GO[®], mantido em local fresco, seco e ao abrigo da luz. Este continha os seguintes ingredientes: óleo de nim emulsionado; óleo de karanga (*Pongamia glabra*); alho; pimenta malagueta; urucum; artemísia.

3.3.2 Inseto sugador (pulgão-verde)

3.3.2.1 Criação

O pulgão *S. graminum* foi criado retirando-se alguns adultos oriundos da criação de manutenção do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras. Estes foram mantidos em folhas de sorgo (cultivar BR 303) em copos plásticos de 50 mL com água destilada para manter a turgidez das folhas. Estas foram trocadas a cada 2 dias e mantidas em sala climatizada com temperatura regulada a 25 °C e fotofase de 12 horas.

3.3.2.2 Teste com chance de escolha

Seções de folhas de sorgo foram colocadas em placas de Petri de 19 cm, dispostas equidistantemente, formando uma arena, onde foram liberados 20 pulgões adultos retirados da criação de manutenção. A placa de Petri teve quatro seções de folhas, correspondente aos seguintes tratamentos: folha de sorgo tratada com óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) a 1%; seção de folha de sorgo tratada com óleo essencial de tomilho a 0,015%; seção de folha de sorgo tratada

com óleo essencial de mil-folhas a 0,015%; seção de folha de sorgo tratada com água destilada e etanol (1:1) como testemunha. Foram realizados testes preliminares para determinação das concentrações utilizadas.

Avaliou-se o número de pulgões adultos que colonizaram cada seção foliar de sorgo após 24, 48 e 72 horas. As seções foliares foram de 3 x 4 cm, para garantir alimento para o pulgão nesse período. O fundo das placas de Petri foi coberto por papel de filtro umedecido e vedado por filme plástico com microporos para aeração.

As soluções foram preparadas no momento da realização do bioensaio. As folhas foram lavadas em água sanitária e em seguida água destilada como no ensaio anterior. Estas foram emergidas por 5 minutos nas soluções e, em seguida, deixadas para secar por 10 minutos em temperatura ambiente.

O delineamento foi em blocos ao acaso com 10 repetições. Os dados de número de pulgões adultos por seção foliar foram transformados para $\sqrt{X + 0,01}$ e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974) com nível de 5 % de probabilidade no programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas).

3.3.2.3 Teste sem chance de escolha

Os pulgões foram colocados em placa de Petri de 10 cm, forrada com papel de filtro e com uma seção de folha de sorgo de 8 x 5 cm, imersa em solução contendo óleo essencial. Foram testadas duas concentrações, definidas por teste preliminar (0,005 e 0,015%), dos óleos de tomilho e mil-folhas. O óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) foi utilizado na concentração de 1%.

As suspensões foram preparadas no momento da utilização pela diluição em etanol e água destilada na proporção de 1:1. As seções de folhas ficaram por 1 minuto em recipiente contendo água sanitária e em seguida foram lavadas por duas vezes imergindo-as em recipientes contendo água destilada. Para a imersão

furou-se a nervura da folha com cliques e estas foram mergulhadas por 5 minutos na solução. Foram colocadas para secar em um varal à temperatura ambiente por 10 minutos sem muita ventilação até que a superfície da folha estivesse seca e então foram colocadas nas placas com papel de filtro umedecido (Gonçalves et al., 2001; Lee et al., 1997).

Imediatamente, após a aplicação dos tratamentos, foram liberados 10 pulgões adultos sobre as seções foliares. A avaliação da mortalidade dos pulgões foi realizada após 24 e 72 horas da liberação dos insetos na placa de Petri. Para manter a turgidez das folhas o papel de filtro foi umedecido sempre que necessário.

O delineamento foi inteiramente ao acaso, com seis tratamentos: óleos essenciais de mil-folhas e tomilho em duas concentrações; óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]); testemunha, contendo 5 repetições para cada tratamento.

Os dados foram transformados para \sqrt{X} e submetidos à análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974) a 5% e a eficiência de cada tratamento pela fórmula de Abott (1925).

3.3.3 Inseto mastigador (lagarta-do-cartucho)

3.3.3.1 Criação

A criação foi iniciada com pupas da largata-do-cartucho oriundas da criação de manutenção do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA-MG). As pupas foram colocadas em gaiolas de PVC com 20 cm de diâmetro e 25 cm de altura, cuja parede interna era revestida com papel sulfite, tampada na parte superior com tecido tipo organza, sendo sua parte inferior apoiada em prato plástico de 25 cm de diâmetro forrado com papel

filtro. Após a emergência dos adultos, em cada gaiola, colocou-se alimento num frasco de 10 mL, contendo um chumaço de algodão saturado com solução de açúcar a 10%, sendo trocada a cada dois dias (Goussain, 2001).

As posturas foram coletadas diariamente, recortando-se a massa de ovos juntamente com o papel sulfite, e colocadas em copos plásticos com capacidade de 50 mL, contendo em seu interior um pedaço de aproximadamente 5 gramas de dieta artificial à base de feijão e levedura (Kasten Junior et al., 1978), sendo o conjunto fechado com tampa acrílica. Após três dias de eclosão, as lagartas foram individualizadas em copos plásticos, sendo mantidas em câmara climatizada regulada a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

3.3.3.2 Teste com chance de escolha

Secções de folhas de milho foram colocadas em placas de Petri de 19 cm, dispostas equidistantemente, formando uma arena, onde foi liberada uma lagarta de 3º instar. As secções de milho foram preparadas da mesma maneira que o ensaio com pulgões.

O fundo da placa de Petri foi coberto por papel de filtro umedecido, para manter a turgidez das folhas de milho tratadas. Uma lagarta de 3º instar (10 dias) foi colocada no centro da arena. A placa foi vedada com papel plástico transparente com pequenos furos para a entrada de ar.

A placa continha quatro secções de folhas, correspondentes aos seguintes tratamentos: folha de milho tratada com óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) a 1%; seção de folha de milho tratada com óleo essencial de tomilho na concentração igual a 0,001 %; seção de folha de milho tratada com óleo essencial de mil-folhas na concentração 0,0002 %; seção de folha de milho tratada com água destilada e etanol (1:1) como testemunha. As concentrações utilizadas foram definidas por teste preliminar.

Após um período de 24 horas, foi determinada a área foliar consumida pela lagarta em cada seção utilizando papel milimetrado (Agarwal et al., 2001). As seções foliares foram 4 x 5 cm, para garantir alimento para a lagarta neste período.

O delineamento foi o de blocos casualizados com 5 repetições; sendo que cada repetição foi a média de 4 arenas, certificando que em cada repetição pelo menos uma folha de cada tratamento tinha sido visitada pela lagarta. Os dados de consumo foliar foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974) com nível de 5 % de probabilidade.

3.3.3.3 Teste sem chance de escolha

O ensaio foi realizado em lagartas individualizadas observando a eficácia dos óleos essenciais por ingestão de dieta natural e dieta artificial.

No ensaio com dieta natural, seções de folhas de milho (4 x 5 cm) (cultivar C 303) foram recortadas de plantas de milho com 30 dias de idade dando preferência para as folhas do meio da planta e perto do cartucho do milho. As plantas de milho foram cultivadas em vasos que receberam adubação padrão e mantidas em casa de vegetação.

As folhas foram recortadas e imersas nas soluções de óleo essencial, preparadas no momento da utilização, pela diluição em etanol e água destilada na proporção de 1:1. A concentração utilizada para a mil-folhas foi de 0,0002 %, para o tomilho 0,001 % e o nim comercial (Nim-I-GO[®]) foi diluído a 1,0%, de acordo com testes preliminares. O controle foi imerso em 50 % etanol.

Para a imersão, seções foliares foram mergulhadas por alguns segundos nas soluções preparadas. Estas foram colocadas para secar a temperatura ambiente por 20 minutos sem muita ventilação até que a água na superfície da folha secasse (Roel et al., 2000; Gonçalves et al., 2001).

Em seguida as seções de milho foram colocadas em tubos de ensaio (8,5 x 2,5 cm) contendo um chumaço de algodão umedecido para manter a folha túrgida. Colocou-se uma lagarta de 3º instar (10 dias), e o tubo de ensaio foi vedado com papel plástico transparente com pequenos furos para a entrada de ar.

A área foliar consumida e mortalidade foi verificada após 24 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos (2 óleos essenciais, óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) e controle) e 10 repetições para cada tratamento. As médias foram avaliadas pelo teste de Scott Knott (1974) a 5% de significância.

O ensaio em dieta artificial foi conduzido no laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Entomologia, em câmara climatizada com temperatura regulada a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

A solução contendo óleo essencial foi adicionada à dieta e homogeneizada antes que essa se solidificasse à temperatura em torno de 35°C (Martinez & Emden, 2001; Pascual-Villalobos & Robledo, 1998). Nas mesmas condições foram adicionados etanol e água destilada para a testemunha e óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) para a dieta padrão. Em seguida a dieta foi dividida e colocada em copinhos de plástico de 50 mL. Estes foram levados para câmara climatizada por 17 horas para evaporação do solvente evitando intoxicação das lagartas (Lee et al., 1999).

As repetições foram realizadas retirando-se lagartas de 3º instar emergidas na mesma data (10 dias de idade), sendo cada repetição retirada de uma geração diferente da criação de manutenção. Estas foram transferidas individualmente para os recipientes contendo as dietas tratadas que estavam na BOD.

Foram avaliadas 3 concentrações (50, 100 e 150 ppm) para os óleos essenciais de mil-folhas e tomilho, de acordo com testes preliminares. O óleo de

nim comercial (Nim-I-GO[®]) foi utilizado na dosagem de 1% como sugerido na bula e por Brunherotto & Vendramim (2001).

A cada dois dias observaram-se a mortalidade larval e biologia das lagartas. Quando as lagartas empuparam, determinou-se a duração da fase larval. As pupas foram pesadas em balança de precisão, identificadas em relação ao sexo, baseando-se nos caracteres sexuais externos e registrado o aparecimento de anormalidades.

Os adultos de cada tratamento foram individualizados em gaiolas de PVC como realizado para a criação de manutenção. A cada dois dias observou-se a emergência de pupas, verificando a duração da fase de pupa e viabilidade das pupas. Os adultos foram analisados quanto a presença de anormalidades no inseto. As massas de ovos foram coletadas através de pincel fino para copos plásticos de 50 mL contendo dieta artificial, registrando-se o número total de posturas e emergência de adultos das massas de ovos de cada tratamento.

Cada parcela experimental foi composta por vinte e cinco lagartas. Utilizou-se delineamento em blocos, com os seguintes tratamentos: óleo essencial de tomilho e mil-folhas em três concentrações (50, 100 e 150 ppm); óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]); testemunha e 3 repetições.

Avaliaram-se as seguintes características: viabilidade larval (%); duração da fase larval; viabilidade de pupas (%); duração da fase de pupa; peso de pupas com 24 horas (mg); viabilidade total; anormalidades de pupas; anormalidades de adultos. Para os dados de viabilidade o valor correspondente a 100% foi corrigido para $1 - \frac{1}{4^n}$ e 0% corrigido para $\frac{1}{4^n}$.

Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Scott-Knott a 5% no programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização química dos óleos essenciais

4.1.1 Análise dos óleos essenciais no Infravermelho

O espectro no infravermelho do óleo essencial de *A. millefolium* (Figura 19) indica a presença de compostos aromáticos pelas bandas de deformações axiais de metileno e metila na região de 2800-2900 cm^{-1} , deformações axiais de C=C em sistemas cíclicos em 1650 cm^{-1} e deformação angular simétrica fora do plano do grupo metileno na região de 800-870 cm^{-1} . Já a presença de banda na região de 1000-1300 cm^{-1} indica deformação axial de C-O. A banda centrada no intervalo de 1680-1750 cm^{-1} indica a presença do grupo carbonílico (C=O), provavelmente conjugado.

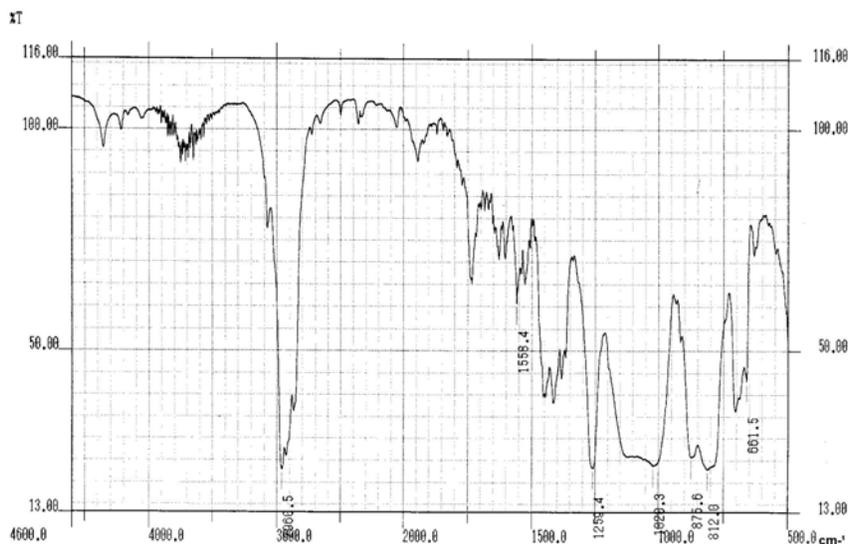


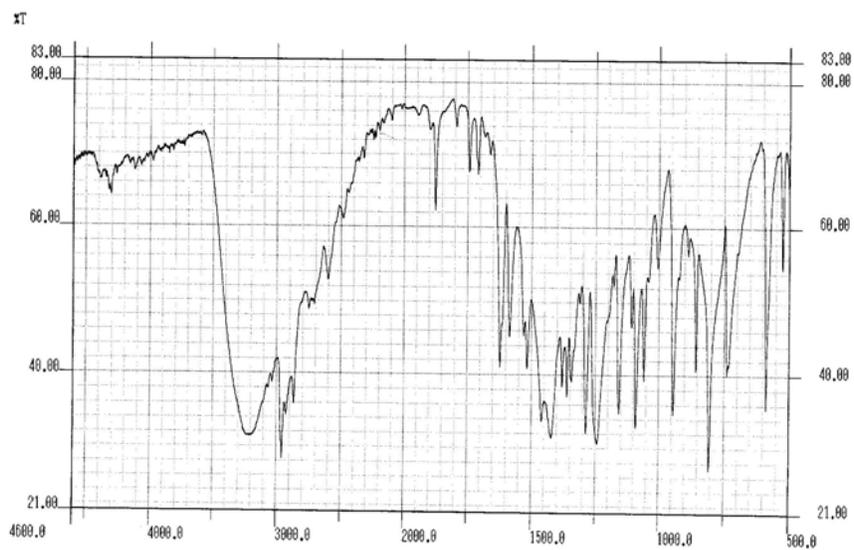
FIGURA 19. Espectro no infravermelho do óleo essencial de *A. millefolium*.

Na caracterização do óleo essencial de *T. vulgaris* pelo espectrofotômetro de infravermelho, utilizou-se o padrão timol como base de comparação, já que esse composto é um dos majoritários encontrados nesse óleo essencial e está presente na maioria das amostras de óleo essencial de tomilho (Granger & Passet, 1973; Adzet et al., 1977).

Comparando os dois espectros, observa-se que os mesmos são similares (Figura 20). Os mesmos sinais do padrão são encontrados no espectro do óleo de tomilho apesar de alterações pela presença de outros compostos. Em ambos, observa-se uma banda longa, centrada entre 3500-3200 cm^{-1} , característica da deformação axial de OH em ligações intermoleculares. Em torno de 1667-2000 cm^{-1} observam-se harmônicas ou bandas de combinação. No intervalo 1470-1595 cm^{-1} deformação axial de C=C do anel aromático; na região compreendida entre 1220-1225 cm^{-1} , deformação axial da ligação (C-O) (Silverstein & Webster, 2000).

As ligações dos grupos metínicos do anel (-CH) são evidenciados pela deformação axial de aromático em 2960 cm^{-1} e deformação angular fora do plano de metínico em 720-810 cm^{-1} .

A)



B)

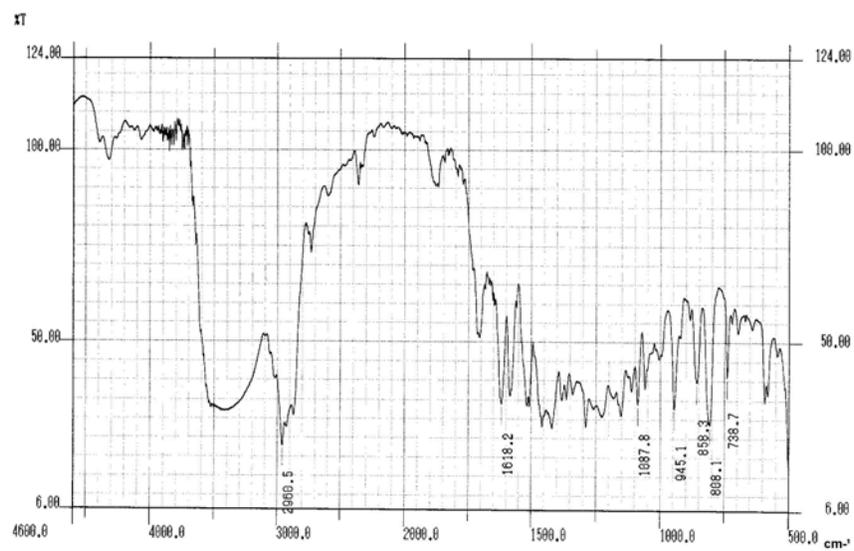


FIGURA 20. Espectro no infravermelho do padrão timol (A) e do óleo essencial de *T. vulgaris* (B).

4.1.2 Análise dos dados de Espectrometria de Massa acoplada à Cromatografia gasosa

O cromatograma do óleo essencial de mil-folhas (Figura 21) demonstra a presença de dez substâncias diferentes, dentre as quais os sesquiterpenos 7-etil-1,4-dimetilazuleno e o germacreno-D aparecem como compostos majoritários.

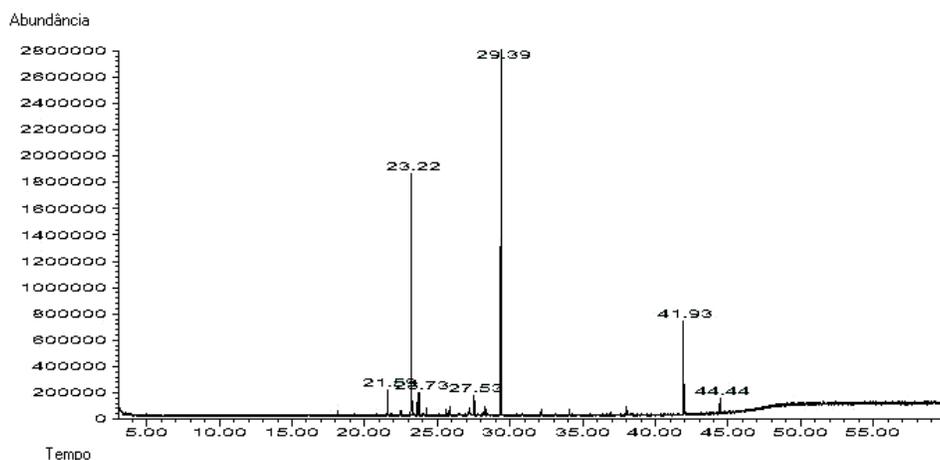


FIGURA 21. Cromatograma do óleo essencial obtido da parte aérea de *A. millefolium*.

A substância conhecida como 7-etil-1,4-dimetilazuleno foi detectada no tempo de retenção de 29.39 min., presente na concentração de 49,3 % em relação aos demais constituintes, 95 % de semelhança com o padrão referente ao banco de dados do aparelho. O espectro de massa do azuleno e da biblioteca eletrônica estão apresentados na Figura 22.

De acordo com Silverstein & Webster (2000), ligações duplas, estruturas cíclicas e especialmente anéis aromáticos, como o 7-etil-1,4-dimetilazuleno, estabilizam o íon molecular, aumentando a probabilidade de sua formação. Portanto, o pico íon molecular do composto 7-etil-1,4-dimetilazuleno (m/z 184) é o pico-base.

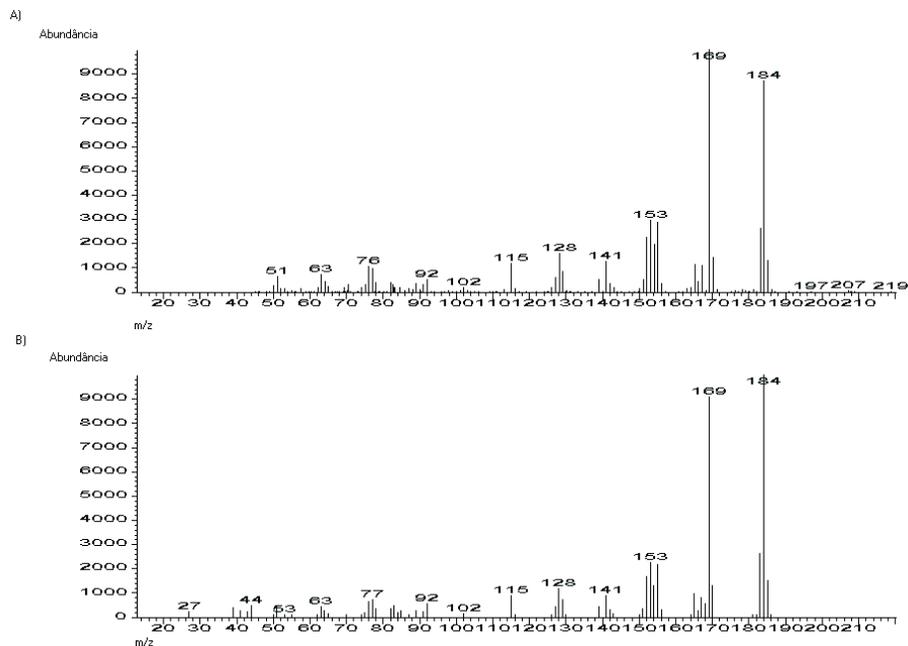


FIGURA 22. A) Espectro de massas do 7-etil-1,4-dimetilazuleno, referente ao tempo de retenção entre 29,337 e 29,418 minutos. B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do 7-etil-1,4-dimetilazuleno.

O fragmento correspondente ao pico em m/z 169 é característico da quebra da ligação do grupamento metila, ficando a carga positiva no fragmento cíclico (Figura 23).

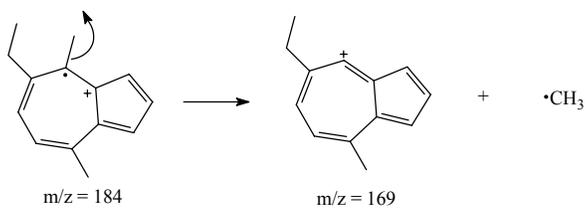


FIGURA 23. Fragmentação do 7-etil-1,4-dimetilazuleno com perda de grupamento metila.

Outro pico da fragmentação resultante do 7-etil-1,4-dimetilazuleno igual a m/z 153 ocorre com a retirada de dois grupamentos metila e um átomo de hidrogênio pela ressonância (Figura 24).

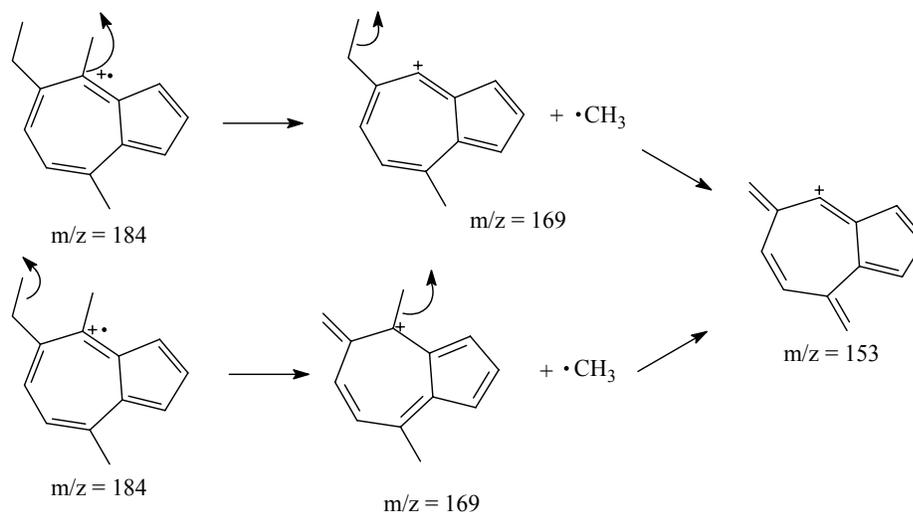


FIGURA 24. Fragmentação do 7-etil-1,4-dimetilazuleno com perda de dois grupamentos metila e um átomo de hidrogênio.

Inicialmente, atribuiu-se ao azuleno as propriedades antiinflamatórias devido à presença do óleo essencial (Haggag et al., 1975; Lenkey, 1961; Paris & Moise, 1971); recentemente, pesquisadores demonstraram que a essa atividade estavam associados não só os componentes azulênicos, mas também uma glicoproteína hidrossolúvel extraída das extremidades florais (Chandler et al., 1982). O azuleno possui propriedades antiflogísticas, largamente utilizadas em produtos cosméticos e de higiene, agindo também como refrescante e calmante. Possui aspecto líquido de coloração azul escuro e sensível à luz e ao ar.

O sesquiterpeno, germacreno-D, segundo composto majoritário presente na amostra, ocorreu no tempo de retenção igual a 23.22 minutos, na concentração de 28,0% e 99 % de qualidade de semelhança com o padrão da base de dados (Figura 25). Óleos de mil-folhas ricos em sequisterpenos, em

particular β -cariofileno e germacreno-D, foram relatados por Kokkalou et al. (1992) em plantas naturais da América do Norte, Hungria e Alemanha. Segundo estes, o composto possui forte ação sobre insetos como atrativo, imitando um feromônio sexual (Mozuraitis et al., 2002; Tahara et al., 1975; Manjunatha et al., 1998; Backman, et al., 2001; Innocenzi et al., 2001).

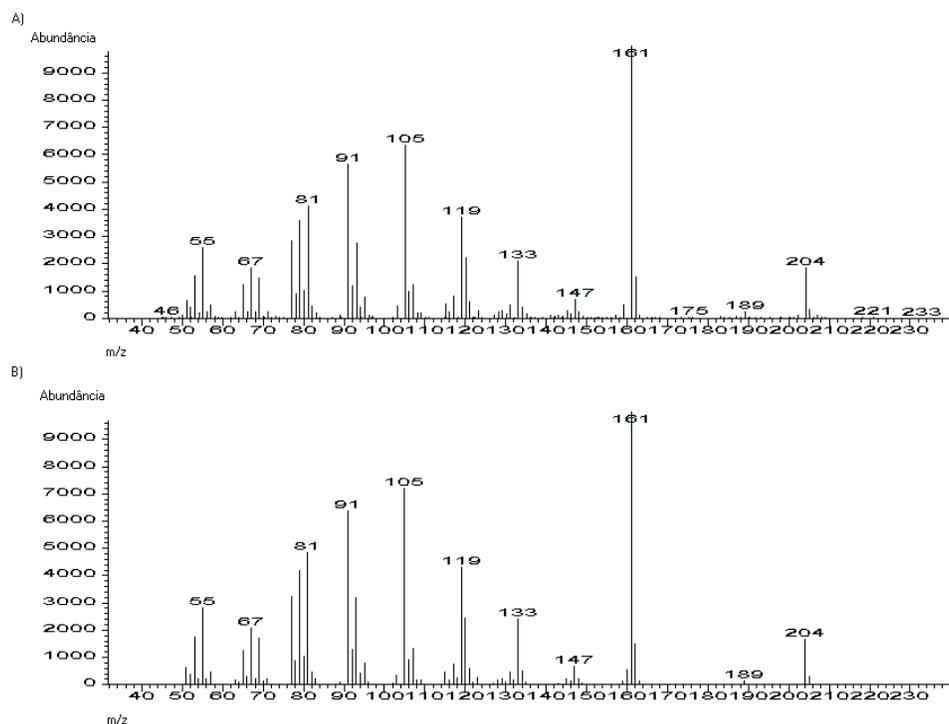


FIGURA 25. A) Espectro de massas do germacreno-D referente ao tempo de retenção entre 23.185 e 23.248 minutos. B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do germacreno-D.

Observando o espectro de massa do possível composto, pode-se verificar que o pico-base apresenta-se em m/z 161, correspondendo provavelmente à eliminação do substituinte isopropil do anel cíclico (Figura 26).

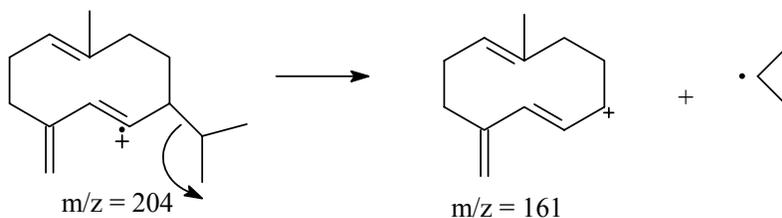


FIGURA 26. Fragmentação do germaceno D com perda de grupo isopropila.

Nos alquenos cíclicos, especialmente nos policíclicos, a localização da ligação dupla é usualmente mais fácil em consequência da forte tendência à quebra alílica e da maior dificuldade de migração da ligação dupla. O pico m/z 105 resulta da eliminação do buteno do fragmento iônico de m/z igual a 161 (Figura 27).

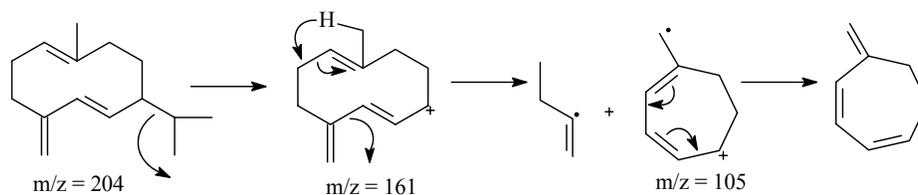


FIGURA 27. Fragmentação do germaceno D com perda de grupo isopropila e buteno.

Encontraram-se os sesquiterpenos trans-cariofileno (3,5%) e E,E- α -farneseno (2,5%), além do aldeído α -cadinol (3,2%) em menor concentração (Tabela 1). Outros constituintes, como germacreno B, δ -cadineno, naftaleno e óxido de cariofileno, foram observados em concentrações mínimas.

TABELA 1. Substâncias majoritárias do óleo essencial de mil-folhas sugeridas pelo cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa.

Tempo de retenção (min.)	Banco de dados	Probabilidade (%)	Fórmula molecular	Abundância (%)
21.538 – 21.618	Trans-cariofileno	98	C ₁₅ H ₂₄	3,52
23.185 – 23.248	Germaceno-D	99	C ₁₅ H ₂₄	28,00
23.705 – 23.750	E,E- α -farneseno	91	C ₁₅ H ₂₄	2,49
27.501 – 27.555	α -Cadinol	93	C ₁₅ H ₂₆ O	3,16
29.337 – 29.418	7-etil-1,4-dimetilazuleno	95	C ₁₄ H ₁₆	49,27

Apesar da grande variação dos constituintes entre plantas *A. millefolium*, o sesquiterpeno cariofileno e seu derivado oxigenado, óxido de cariofileno, são relatados em vários trabalhos referentes à composição do óleo essencial dessa planta (Kokkalou et al., 1992; Mockute & Judzentiene, 2003; Lourenço et al., 1999). Os compostos E,E- α -farneseno e α -cadinol são encontrados em menor frequência (Mockute & Judzentiene, 2003; Lourenço et al., 1999).

O óleo essencial de *T. vulgaris* demonstrou possuir o monoterpene fenólico timol como principal constituinte, podendo ser constatado nos diversos trabalhos realizados sobre a composição química do óleo essencial dessa planta (Hudaib et al., 2002; Guillén & Manzanos, 1998; Karpouhtsis et al., 1998). No cromatograma (Figura 28) observam-se nove diferentes substâncias encontradas e determinadas, segundo o banco de dados do cromatógrafo gasoso acoplado à espectrometria de massa, sendo que a majoritária é timol com 53,6 % de concentração, 95 % de qualidade e tempo de retenção igual a 18.32 min.

A gama de propriedades medicinais é variada, graças ao poder anti-séptico e bactericida de seus componentes; timol (2-isopropil-5-metil-fenol) e seu isômero de posição, o carvacrol (5-isopropil-2-metil-fenol) presentes em cerca de 50% do óleo essencial de tomilho (Figura 15) (Cardoso et al., 2001).

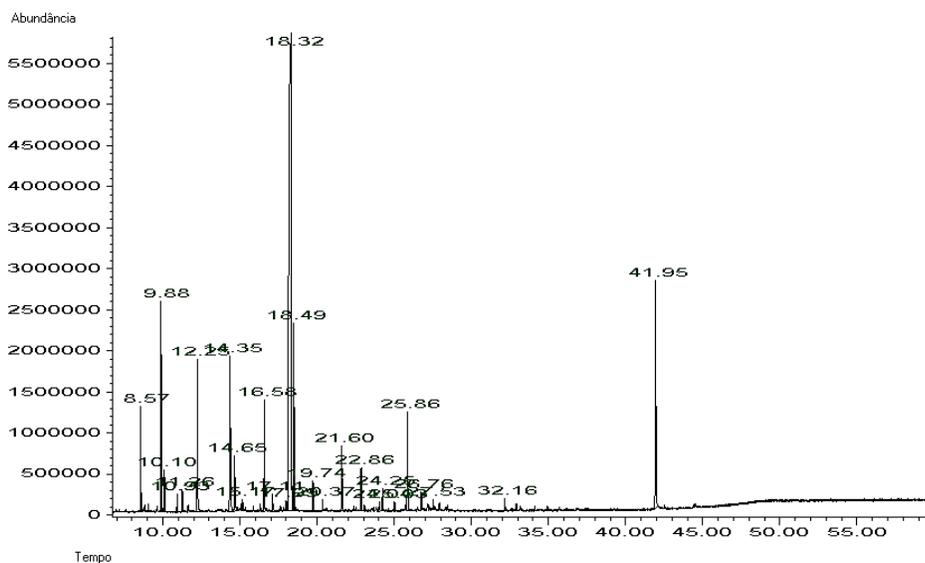


FIGURA 28. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *T. vulgaris*.

O timol é um composto com inúmeras aplicações ou atividades; uma delas é a ação inseticida, sendo este registrado na United States Environmental Protection Agency (EPA) como um inseticida seguro por possuir baixa toxicidade a humanos e baixa contaminação ambiental e por ser rapidamente degradado no ecossistema. Já o carvacrol é considerado mais tóxico para alguns insetos que o timol se estes forem aplicados isoladamente, pois juntos apresentam efeito antagonista (Lee et al., 1997; Imdorf et al., 1995; Karpouhtsis et al., 1998).

Encontrado também em óleo essencial de hortelã, o timol ocorre como grandes cristais incolores ou como pó cristalino branco. Apesar de ser um composto fenólico, é considerado terpenóide, devido à via biossintética de que se origina. Responsável pelas propriedades antifúngicas e antibacterianas das folhas e flores do tomilho e pela aromatização de alimentos na indústria alimentícia (Cardoso et al., 2001).

Observando o espectro de massa (Figura 29), evidencia-se o pico-base em m/z 135, indicando possivelmente a eliminação do substituinte metila, pois o processo de quebra é favorecido nas ligações dos átomos de carbono ramificados. Isto é uma consequência da maior estabilidade dos carbocátions terciários sobre os secundários e destes sobre os primários (Figura 30). As ligações C-C próximas a um heteroátomo frequentemente se quebram, deixando a carga no fragmento que contém o heteroátomo, cujos elétrons não-ligantes estabilizam o fragmento por ressonância.

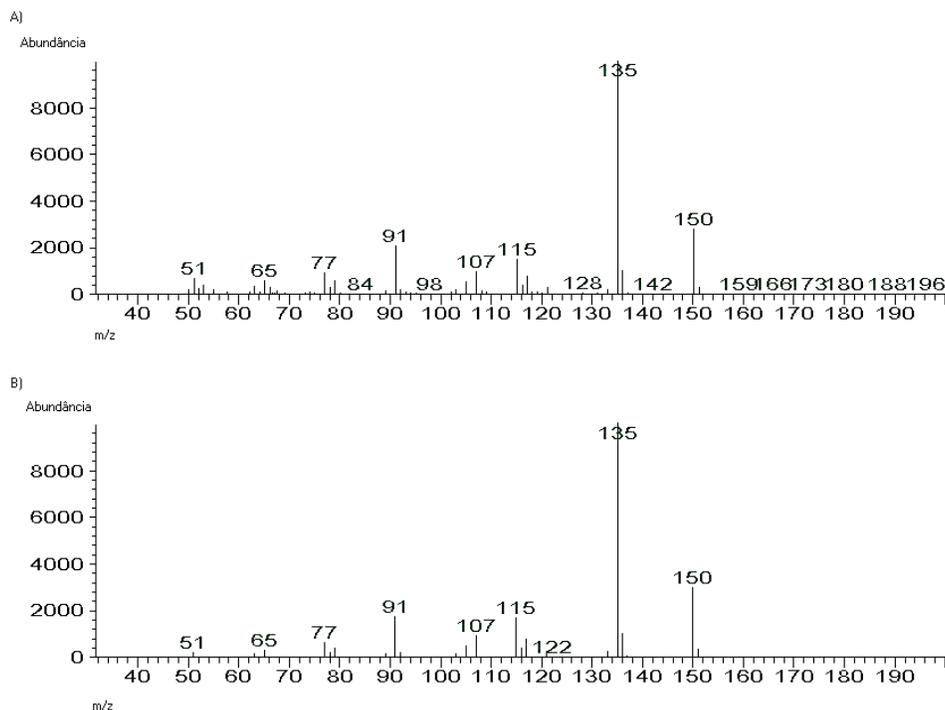


FIGURA 29. A) Espectro de massas do timol referente ao tempo de retenção entre 18,142 e 18,321 minutos. B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do timol.

Outro pico presente no espectro do timol é o de massa (m/z) igual a 91, característico de compostos aromáticos, resultando na formação do cátion

tropílio, que para o timol ocorre pela eliminação do substituinte isopropila e da hidroxila (Figura 31). Com menor intensidade encontra-se o pico de massa correspondente a m/z 115 (Figura 32).

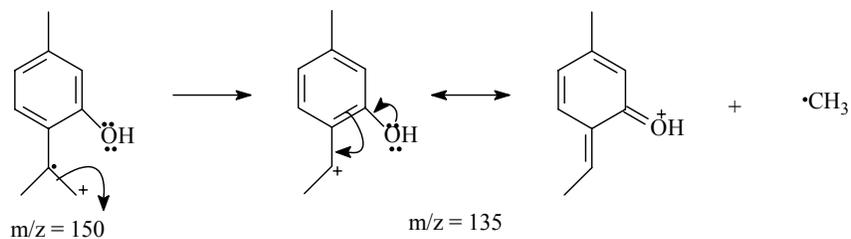


FIGURA 30. Fragmentação do timol com perda de grupo metila.

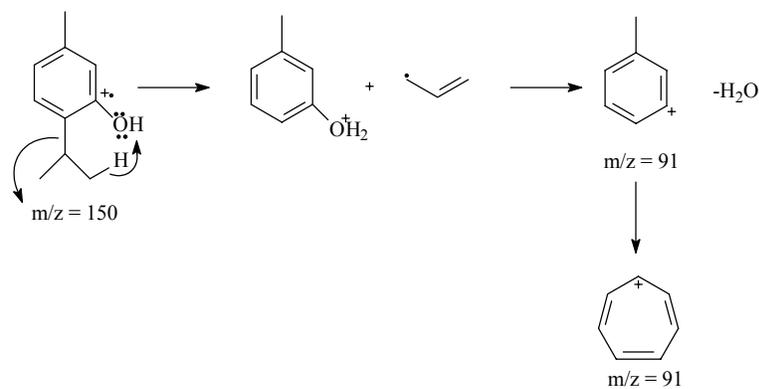


FIGURA 31. Fragmentação do timol resultando no cátion tropílio.

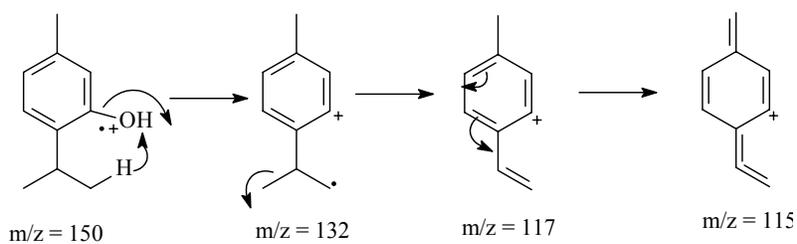


FIGURA 32. Fragmentação do timol resultando no pico m/z 115.

Hudaib et al. (2002) avaliando a composição química dos óleos essenciais de tomilho identificou que os compostos timol e carvacrol estão presentes no óleo essencial de tomilho com dois anos de cultivo, enquanto as plantas com cinco anos de cultivo apresentaram em sua constituição γ -terpineno, linalol, borneol, timol, carvacrol metil éter, β -cariofileno e óxido de cariofileno. Podendo-se assim confirmar os compostos identificados em menor quantidade no óleo essencial de tomilho coletado no Horto de Plantas Medicinais da UFLA (Tabela 2).

TABELA 2. Substâncias majoritárias do óleo essencial de tomilho sugeridas pelo GC-EM.

Tempo de retenção (min.)	Banco de dados	Probabilidade (%)	Fórmula molecular	Abundância (%)
8.552 – 8.578	7-octen-4-ol	78	C ₈ H ₁₆ O	2,27
9.850 – 9.922	p-Cimeno	94	C ₁₀ H ₁₄	5,03
12.205 – 12.268	Linalol	94	C ₁₀ H ₁₈ O	4,17
14.318 – 14.381	Borneol	95	C ₁₀ H ₁₈ O	5,80
16.548 – 16.611	Carvacrol metil éter	96	C ₁₁ H ₁₆ O	2,86
18.142 – 18.321	Timol	95	C ₁₀ H ₁₄ O	53,59
18.473 – 18.509	Carvacrol	91	C ₁₀ H ₁₄ O	4,60
21.553 – 21.616	β -Cariofleno	99	C ₁₅ H ₂₄	1,78
25.825 – 25.869	Óxido de cariofleno	70	C ₁₅ H ₂₄ O	2,87

4.2 Avaliação dos óleos essenciais sobre o pulgão-verde *S. graminum*

No teste com chance de escolha verificou-se que o número médio de pulgões adultos não variou significativamente entre os tratamentos contendo mil-folhas, tomilho, nim comercial (Nim-I-GO[®]) e testemunha, inferindo que os óleos essenciais das plantas testadas não possuem efeito atrativo ou repelente

sobre o comportamento do pulgão-verde frente às seções de folha de sorgo tratadas (Tabela 3).

TABELA 3. Número médio de pulgões *S. graminum* em seções foliares tratadas com mil-folhas, tomilho, nim comercial (Nim-I-GO[®]) e testemunha após 24, 48 e 72 horas da liberação.

Tratamento	Número de pulgões por seção foliar*		
	Tempo (horas)		
	24 h	48 h	72 h
Mil-folhas	3,2	2,9	2,1
Tomilho	5,5	3,9	3,7
Nim comercial	4,1	3,7	3,4
Testemunha	4,7	5,3	4,5

*Média não significativa pela ANAVA ($P > 0,05$).

No teste sem chance de escolha o número médio de pulgões vivos observado nas seções foliares com 0,005% de óleo essencial de mil-folhas foi de 9,8 e 8,8 para 24 e 72 horas, respectivamente. Para a concentração de 0,015% observaram-se 10,0 a 8,8 pulgões vivos após 24 e 72 horas, não havendo diferença entre as concentrações e horários de leitura em comparação com a testemunha. O número médio de pulgões adultos presentes na testemunha foi de 10,0 após 24 horas e 9,4 após 72 horas da liberação (Tabela 4). Além de aparentemente não possuir efeito no comportamento do afídeo em teste com chance de escolha, o óleo de mil-folhas não demonstra ser eficaz para o controle do pulgão-verde em testes com imersão de seções de folha de sorgo em soluções de óleo nessas concentrações.

Os resultados obtidos em teste sem chance de escolha para o óleo essencial de tomilho assemelham-se aos do óleo de mil-folhas com baixa eficiência no controle do pulgão *S. graminum*. A média de pulgões

sobreviventes nas duas concentrações utilizadas foi em torno de 94 a 100 %, não havendo variação entre os horários de contagem dos insetos (Tabela 4). Apesar do óleo essencial de tomilho ser intensamente estudado como inseticida natural, não foram encontrados relatos de efeito sobre insetos sugadores. Isto pode ter ocorrido pela dificuldade do óleo essencial de penetração e translocação na folha, devido à presença de grupos altamente apolares em seus constituintes.

TABELA 4. Número médio de pulgões (NP) *S. graminum* sobreviventes em seções foliares tratadas com mil-folhas, tomilho, nim comercial (Nim-I-GO[®]) e testemunha após 24 e 72 horas da liberação e porcentagem de eficiência do tratamento (%E).

Tratamento		Tempo (horas)			
		24 h		72 h	
		NP*	%E	NP*	%E
Mil-folhas	50 ppm	9,8 a	2	8,8 a	6,4
	150 ppm	10,0 a	0	8,8 a	6,4
Tomilho	50 ppm	10,0 a	0	9,4 a	0
	150 ppm	9,8 a	2	9,4 a	0
Nim comercial		7,0 b	30	4,0 b	57,5
Testemunha		10,0 a	-	9,4 a	-

**Médias dos tratamentos com diferenças significativas pelo teste de Scott e Knott ($P \leq 0,05$).

Entretanto, as seções de folhas tratadas com óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) demonstraram efeito inseticida sobre os pulgões. O número de pulgões adultos encontrados nas folhas tratadas com nim comercial foi de 7 e 4 pulgões vivos às 24 e 72 horas, respectivamente, correspondente a 30% de mortalidade após 24 horas e 60 % após 72 horas da aplicação do produto e liberação dos pulgões. Esse resultado demonstrou ser significativamente

diferente dos demais tratamentos, contendo óleo essencial de tomilho, mil-folhas e a testemunha (Tabela 4).

Relatos de efeito do nim sobre o pulgão-verde foram demonstrados por Hu et al. (1998), os quais observaram redução no crescimento da população de *S. graminum* sobre plantas de sorgo com aplicação de azadiractina (25 mg) ou extrato de sementes de nim no solo. Entretanto, observaram melhores resultados quando o pecíolo de folhas de couve foi colocado em recipientes contendo solução de nim, com 100% de mortalidade de ninfas de 2º instar das espécies de afídeos *Myzus persicae* e *Brevicoryne brassicae*, demonstrando atividade sistêmica do óleo. Neste mesmo período Verkerk et al. (1998), demonstraram que a aplicação de 1 µL de solução de nim sobre folhas de couve, apresentava atividade translaminar desse produto. O experimento consistia na aplicação de 1 µL de solução de nim na face adaxial das folhas, e pequenas gaiolas contendo os afídeos colocadas na face abaxial desta. Baseando-se nesses dados e comparando com os resultados obtidos, conclui-se que para o pulgão *S. graminum* os óleos de mil-folhas e tomilho não apresentam atividade biológica.

Sugerem-se posteriores avaliações do efeito dos óleos essenciais de mil-folhas e tomilho no teste de aplicação tópica sobre o pulgão-verde *S. graminum*, já que não foi observado efeito por ingestão de acordo com a metodologia utilizada nesse experimento. Os modelos utilizados por Hu et al. (1998) podem ser mais efetivos para pulgões, se houver translocação dos óleos essenciais na folha.

4.3 Avaliação dos óleos essenciais sobre a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*

4.3.1 Teste com chance de escolha

No ensaio que avalia a preferência das lagartas a seções foliares com diferentes tratamentos, pode-se observar o comportamento do inseto a diferentes aromas acarretando em repelência ou atração deste.

O óleo essencial de mil-folhas a 0,0002% teve um consumo médio de área foliar significativamente maior (221,20 mm²) do que a testemunha e demais tratamentos, demonstrando alto potencial de atração da lagarta *S. frugiperda* a este. O consumo da área foliar de seções de folha de milho com etanol e água destilada, referente a testemunha, foi de apenas 78,80 mm² após 24 horas da sua liberação, intensificando a preferência da lagarta às seções tratadas com mil-folhas (Figura 33).

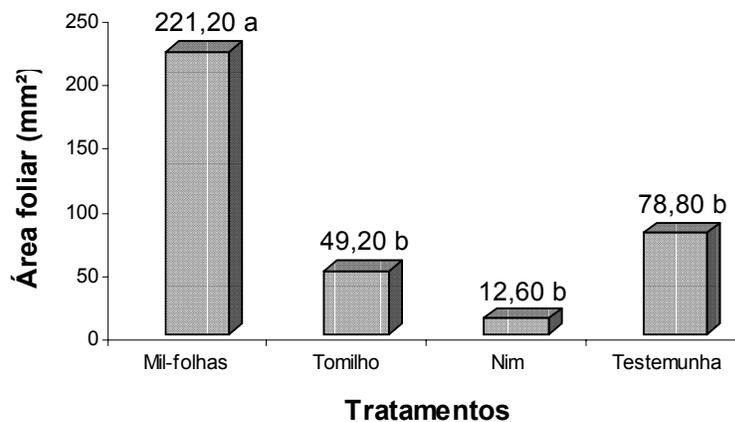


FIGURA 33. Área foliar de seção de milho tratada com óleo essencial de mil-folhas, óleo essencial de tomilho, óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) e testemunha consumida por lagartas *S. frugiperda* em teste com chance de escolha. Médias com diferenças significativas pelo teste de Scott e Knott ($P \leq 0,05$).

Confirmando o resultado observado no teste com chance de escolha, vários artigos relatam a atratividade do composto germacreno-D, presente no óleo essencial da espécie mil-folhas (Figura 34). Tahara et al. (1975) relataram que o esqueleto do sesquiterpeno germacreno D imita feromônios sexuais de insetos. As fêmeas da barata *Periplaneta americana* L. produz dois feromônios sexuais conhecidos como periplanona A e periplanona B que são derivados do germacreno D (Nishino et al., 1989).

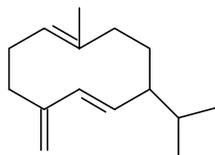


FIGURA 34. Estrutura química do germacreno-D.

Pesquisas de Manjunatha et al. (1998) e Pow et al. (1999) relatam a influência do óleo essencial de mil-folhas sobre o ácaro *Amblyseius cucumeris*. Em ambas, ensaios olfativos sobre *Amblyseius cucumeris* demonstraram alta resposta ao composto germacreno-D aumentando a atratividade a plantas infestadas por tripes *Frankliniella occidentalis*, o qual responde mais ao composto E- β -farneseno, também presente no óleo de mil-folhas. Recentemente, Backman et al. (2001), por meio da eletroantenografia acoplada a cromatografia gasosa, detectou alta resposta da antena de fêmeas da mariposa *Cydia pomonella* aos compostos linalool, β -cariofileno, E- β -farneseno, germacreno D e E,E- α -farneseno. Estes constituintes, exceto germacreno D, encontram-se presentes no óleo essencial de mil-folhas em pequenas concentrações, porém estes podem atuar sinergisticamente com o germacreno D, o qual possui efeito comprovado por inúmeros experimentos.

Stranden et al. (2002) observaram que a mariposa *Helicoverpa armigera* apresenta em maior quantidade neurônios receptores que demonstram alta sensibilidade e seletividade ao sesquiterpeno germacreno D.

O óleo essencial de tomilho ocasionou repelência à lagarta com 49,20 mm² de área média foliar consumida, apesar de não haver diferença significativa em relação com a testemunha. Trabalhos de Anderson et al. (1993) relataram que as mais abundantes células receptoras olfativas das antenas de fêmeas de *Spodoptera littoralis* são as que respondem aos terpenos aromáticos, carvacrol, eugenol e timol, sendo estes deterrentes de oviposição.

O óleo de nim, por ser repelente e fagodeterrente para inúmeros insetos, obteve menor área foliar consumida pela lagarta-do-cartucho com média de 12,60 mm², não diferindo da testemunha (Figura 34).

4.3.2 Teste sem chance de escolha

Para avaliação de efeitos de óleos essenciais em alguns aspectos biológicos da lagarta e mortalidade foram realizados dois testes sem chance de escolha em dieta natural e dieta artificial à base de feijão.

No teste com dieta natural, o consumo das seções foliares tratadas foi significativamente menor em relação a testemunha, contendo apenas etanol e água destilada, em que a área média consumida foi de 534,20 mm² (Figura 35). Nas seções de folha de milho com os tratamentos, óleo essencial de tomilho e mil-folhas e óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]), o consumo foi apenas o suficiente para sua sobrevivência.

No tratamento contendo mil-folhas as lagartas se alimentaram durante 24 horas de uma área equivalente a 225,50 mm², aproximadamente metade da área consumida pelas lagartas na testemunha, podendo-se constatar que esse óleo essencial atrai a lagarta em estudo, porém não mantém sua alimentação após a picada de prova, atuando como deterrente alimentar.

No tratamento contendo tomilho e nim comercial (Nim-I-GO[®]), o consumo foi semelhante, com área média em torno de 200,00 mm² (Figura 35). Pode-se constatar que o consumo de área foliar das lagartas *S. frugiperda* nas seções foliares contendo os óleos essenciais de ambas as plantas e óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]), foi equivalente a menos da metade do consumo das seções foliares da testemunha. Em nenhum dos tratamentos houve estimulação para alimentação após a picada de prova. Sugere-se que em teste de campo esses dados sejam confirmados para diminuição de perda foliar pela infestação da lagarta-do-cartucho na cultura do milho, reduzindo o prejuízo econômico.

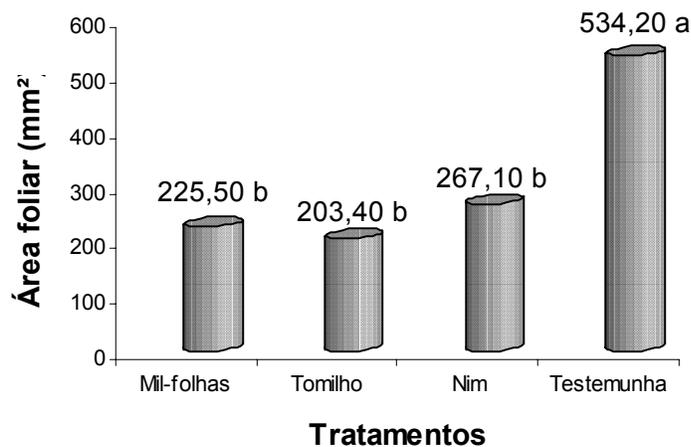


FIGURA 35. Área foliar de seção de milho tratada com óleo essencial de mil-folhas, óleo essencial de tomilho, óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) e testemunha consumida por lagartas *S. frugiperda* em teste sem chance de escolha. Médias com diferenças significativas pelo teste de Scott e Knott ($P \leq 0,05$).

No teste sem chance de escolha com a adição de óleos essenciais em dieta artificial, o óleo de mil-folhas demonstrou não alterar a duração da fase larval com médias de dias de duração igual a 21,60, 22,20, 23,30 nas concentrações de 50, 100 e 150 ppm, respectivamente (Tabela 5). As lagartas apresentaram alta viabilidade nas menores doses, sendo que para a dose de 150

ppm apenas 56,00 % das lagartas sobreviveram com a ingestão de óleo essencial de mil-folhas (Tabela 5). Não houve diferença entre peso de pupas e na duração da fase de pupa, porém estas apresentaram inúmeras anormalidades, demonstrando efeito na metamorfose do inseto (Figura 36).

Apesar das anormalidades das pupas, não ocorreu mortalidade significativa entre os tratamentos, com porcentagem de viabilidade em torno de 80 % para todas as concentrações de *A. millefolium*. Entretanto, no contexto da criação, a viabilidade total foi altamente significativa para mil-folhas a 150 ppm, com 46,67 % de insetos sobreviventes até o final da geração.

A baixa viabilidade larval e da criação obtida pelo óleo essencial de mil-folhas demonstra grande potencial inseticida aliado à alta atratividade para lagartas-do-cartucho. Em um glossário de derivados de plantas deterrentes a insetos registra-se toxicidade do extrato metanólico da mil-folhas, no qual o composto N-(metilpropil)-E2,E4-decadienamida foi identificado, a larvas de *Aedes triseriatus*; redução na alimentação de larvas *Mythimna unipuncta* pelo extrato de acetona da haste dessa planta (Lalonde et al., 1980³ e Muckensturm et al., 1981⁴ citado por Jacobson, 1990). A *A. millefolium* é relatada como tóxica para a mosca doméstica por contato e causa mortalidade a larvas de carrapatos por exposição ao pó obtido das flores (Jacobson, 1975). Thorsel & Tunon (1998) relatam que o extrato de mil-folhas previne o ataque de *Aedes aegypti*.

Analisando os dados da Tabela 5, nota-se que a razão sexual permaneceu constante, em torno de 0,5, para todas as dosagens. Ocorreram algumas anormalidades em adultos como se pode notar na Figura 36.

³ LALONDE, R. T.; WONG, C. F.; HOFSTEAD, S. J.; MORRIS, C. D.; GARDNER, L. C. N-(2-methylpropyl)-E,E-2,4-decadienamida, a mosquito larvicide from *Achillea millefolium* L. **Journal Chemical Ecology**, v. 6, p. 35, 1980.

⁴ MUCKENSTURM, B.; DÜPLAY, D.; MOHAMNADI, F.; MORADIR, A. The role of natural phenylpropanoids as insect feeding deterrents. Proc. Chem. Colloq., France, Nov. 16-20, 1981, 131p.

O óleo essencial de tomilho adicionado a dieta artificial não apresentou efeito sobre a duração da fase larval com média de 21,40, 23,87 e 25,67 para as doses 50, 100 e 150 ppm. Ocorreram, entretanto, apenas 48,00 % de viabilidade larval na concentração de 150 ppm. O corpo das lagartas mortas apresentou coloração escura (Figura 37) e aspecto líquido como descrito por Lee et al., 1999.

Na fase de pupa não houve efeito do óleo essencial de tomilho, sendo os dados de peso de pupa, duração da fase de pupa e viabilidade de pupa semelhantes aos da testemunha (Tabelas 5 e 6). Kasten Júnior et al. (1978), em estudo de dados biológicos de *S. frugiperda* em dieta artificial à base de feijão, mesma dieta utilizada neste experimento, encontraram peso de pupa de 0,230 g, duração da fase de pupa de 8,26 dias e viabilidade de pupas em torno de 76,3 %, assemelhando-se ao observado neste experimento.

Verifica-se que a viabilidade da criação (Tabela 6) com a aplicação de óleo essencial de tomilho apresentou diferença significativa na dose de 150 ppm com 38,67 % de lagartas sobreviventes, confirmando os dados de Morsy et al. (1998) os quais, utilizando o óleo essencial de *T. vulgaris*, demonstraram efeito inseticida com LC₅₀ de 130 ppm sobre lagartas de 3º instar de *Lucilia sericata* (Meigen).

A mortalidade encontrada nesse inseto pela aplicação dos óleos de mil-folhas e tomilho poderia ter sido mais significativa se os insetos anormais incapazes de se reproduzirem fossem considerados mortos.

Lee et al. (1999) avaliaram o efeito de monoterpenóides aplicados na superfície da dieta artificial e adicionadas na dieta. O composto timol apresentou efeito inseticida quando aplicado na superfície da dieta com LC₅₀ igual a 1,62 mg por aproximadamente 8 mL de dieta, sobre lagartas *Ostrinia nubilalis* (Hübner), porém esse efeito não foi observado com a adição do composto na

dieta, sugerindo que a aplicação dos óleos essenciais na superfície da dieta artificial poderiam demonstrar maior efeito sobre o inseto.

TABELA 5. Duração da fase larval (DL), viabilidade larval (VL), peso de pupas (PP) e duração da fase de pupas (DP) *S. frugiperda* em dietas artificiais tratadas com mil-folhas, tomilho, nim comercial (Nim-I-GO[®]) e testemunha.

Tratamentos	DL (dias)*	VL (%)*	PP (mg)**	DP (dias)**	
Mil-folhas	50 ppm	21,60 a	95,63 a	229,01	10,27
	100 ppm	22,20 a	81,33 a	221,08	10,46
	150 ppm	23,30 a	56,00 b	206,96	9,93
Tomilho	50 ppm	21,40 a	99,90 a	227,40	10,29
	100 ppm	23,87 a	70,33 a	233,77	9,53
	150 ppm	25,67 a	48,00 b	203,60	10,66
Nim comercial	-	0,00 c	-	-	
Testemunha	22,47 a	93,00 a	208,78	9,37	

*Médias dos tratamentos com diferenças significativas pelo teste de Scott e Knott ($P \leq 0,05$).

**Média não significativa pela ANAVA ($P > 0,05$).

Na dose de 150 ppm de óleo essencial de tomilho observou-se maior porcentagem de pupas defeituosas e menor número de massas de ovos em relação aos demais tratamentos (Figura 37). Esses dados podem ser confirmados por inúmeros trabalhos que relatam o efeito inseticida dos compostos (timol, carvacrol, p-cimeno, β -cariofileno e carvacrol-metil-éter) extraídos de várias plantas e presentes no óleo essencial de tomilho em vários insetos como *Coleus amboinicus*, *Culex pipiens* e *Pheidole pallidula* causando redução na oviposição, repelência e mortalidade por aplicação tópica (Gurdip et al., 2002; Traboulsi et al., 2002; Farag et al., 1994; Tsoukatou et al., 2001; Mansour et al., 2000).

O óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) (padrão) resultou em 100 % de mortalidade larval após uma média de 16,53 dias da liberação das lagartas na dieta tratada. O tratamento com nim comercial prolongou os instares larvais, reduziu o crescimento, impediu a ecdise, provocou anormalidades morfológicas e causou mortalidade larval (Figura 38). Esses dados são confirmados pelo trabalho de Martinez & Emden (2001), que observaram os mesmos efeitos, porém sobre a lagarta *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) de forma dependente da dose (de 0,01 ppm a 1 ppm p/v) adicionada do composto azadiractina à dieta artificial a base de feijão, gérmen de trigo e alfafa.

TABELA 6. Viabilidade de pupa (VP), razão sexual (RS) e viabilidade total (VT) de *S. frugiperda* em dietas artificiais tratadas com mil-folhas, tomilho, nim comercial (Nim-I-GO[®]) e testemunha sem chance de escolha.

Tratamentos		VP (%)*	RS*	VT (%)**
Mil-folhas	50 ppm	82,70	0,52	78,67 a
	100 ppm	95,64	0,53	73,34 a
	150 ppm	86,27	0,54	46,67 b
Tomilho	50 ppm	88,37	0,46	80,00 a
	100 ppm	88,25	0,53	66,67 a
	150 ppm	86,47	0,59	38,67 b
Nim comercial		-	-	-
Testemunha		91,17	0,45	84,00 a

*Média não significativa pela ANAVA ($P > 0,05$).

**Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott e Knott ($P \leq 0,05$).

De maneira geral, os resultados demonstraram que os óleos essenciais não possuem efeito no comportamento e na biologia do pulgão-verde. Por se tratar de inseto sugador, pode-se inferir que os óleos essenciais possuem

pequeno poder de penetração nas folhas. No caso da lagarta-do-cartucho, inseto mastigador, o óleo de mil-folhas demonstrou ser altamente atrativo possivelmente devido à presença do composto germacreno-D presente em 28% da amostra, apesar de não estimular a alimentação. Ambos os óleos essenciais apresentaram menor consumo foliar em teste com dieta natural e reduziram em torno de 50 % a viabilidade larval e de criação na concentração de 150 ppm. Os óleos essenciais de mil-folhas e tomilho possuem potencial inseticida sobre a lagarta-do-cartucho, necessitando, entretanto, de maiores análises para real constatação de sua eficiência.

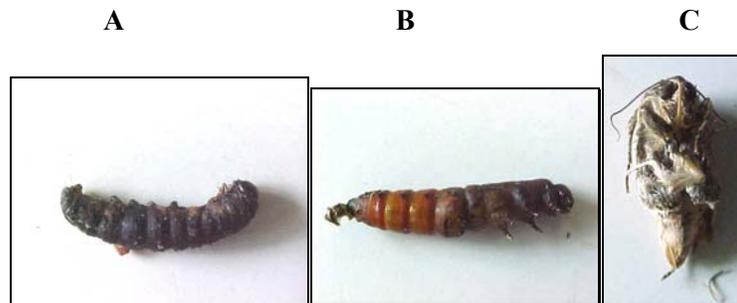


FIGURA 36. Aspectos de lagartas *S. frugiperda* em bioensaios realizados com adição de mil-folhas a dieta artificial em teste sem chance de escolha. A. lagarta morta; B. má formação de pupa; C. adulto defeituoso.

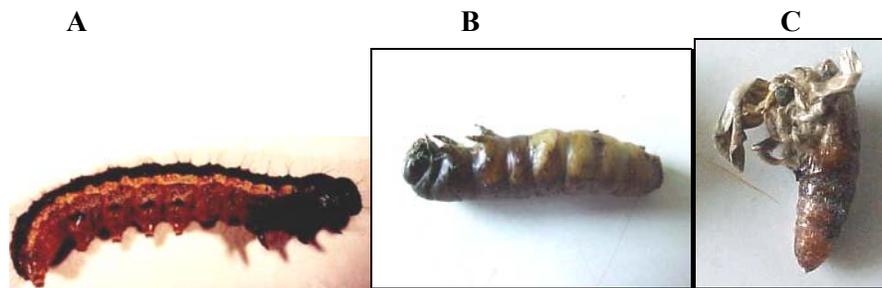


FIGURA 37. Aspectos de lagartas *S. frugiperda* em bioensaios realizados com adição de tomilho a dieta artificial em teste sem chance de escolha. A. lagarta morta; B. má formação de pupa; C. adulto defeituoso.



FIGURA 38. Lagarta *S. frugiperda* com dificuldade de troca de instar e baixo desenvolvimento com a adição de óleo de nim comercial (Nim-I-GO[®]) na dieta artificial.

5 CONCLUSÃO

Os constituintes majoritários do óleo essencial de *A. millefolium* são azuleno e germacreno-D e do *T. vulgaris* é o timol.

Os óleos essenciais testados apresentam potencial para o manejo da lagarta-do-cartucho, entretanto não demonstram atividade inseticida para o pulgão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 18, p. 265-267, 1925.
- ADZET, T.; GRANGER, R.; PASSET, J.; SAN MARTIN, R. Chemical polymorphism in the genus *Thymus*: taxonomic importance. **Biochemical Systematics and Ecology**, Elmsford, v. 5, n. 4, p. 269-272, 1977.
- AGARWAL, M.; WALIA, S.; DHINGRA, 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, 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. 575-578, June 1987.
- ALTIERI, M. A.; LIPPMANN, M.; SCHMIDT, L. L.; KUBO, I. Antifeedant effects of nomilin on *Spodoptera frugiperda* and *Trichoplusia ni* under laboratory conditions. **Protection Ecology**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 91-94, 1984.
- ANDERSON, P.; HILKER, M.; HANSSON, B. S.; BOMBOSCH, S.; KLEIN, B.; SCHILDKNECHT, H. Oviposition deterring components in larval frass of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae): a behavioural and electrophysiological evaluation. **Journal of Insect Physiology**, Elmsford, v. 39, n. 2, p. 129-137, Feb. 1993.
- BACKMAN, A. C.; BENGTTSSON, M.; BORG-KARLSSON, A. K.; LIBLIKAS, I.; WITZGALL, P. Volatiles from apple (*Malus domestica*) eliciting antennal responses in female codling moth *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae): effect of plant injury and sampling technique. **Zeitschrift für Naturforschung**, Section C, Biosciences, Tuebingen, v. 56, n. 3/4, p. 262-268, Mar. Apr. 2001.
- BIANCO, R. Pragas e seu controle. In: FUNDAÇÃO INSTITUTO AGRÔNOMICO DO PARANÁ. **A cultura do milho no Paraná**. Londrina: IAPAR, 1991. p. 184-221. (IAPAR. Circular Técnica, 68).

BOUDA, H.; TAPONDJOU, L. A.; 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.

BRECHTEL, A. O nim (*Azadirachta indica* A. Juss.), uma árvore para proteção vegetal de uso múltiplo. In: ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS: controle ecológico de pragas e doenças 1. , 2001, Botucatu. **Resumos. . .** Botucatu: Livraria e Editora Agroecológica, 2001. 196 p.

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.

iológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e do pulgão-da-folha *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (HEMIPTERA: APHIDIDAE). **2001. 64 p.** CARDOSO, M. G. et al. **Óleos essenciais**. Lavras: Pró-Reitoria de extensão, 2000. 42 p. (Boletim Técnico, v. 9, n. 73)

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. 81 p. (Textos Acadêmicos).

CHANDLER, R. F.; HOOPER, S. N.; HARVEY, M. J. Ethnobotany and phytochemistry of yarrow, *Achillea millefolium*, Compositae. **Economic Botany**, Bronx, v. 36, n. 2, p. 203-223, 1982.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, FJ. de A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza: edições UFC, 1981, 210p.

CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito de *Spodoptera frugiperda* em diferentes estágios de crescimento da cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 355-359, mar. 1982.

ECONOMOU, K. D.; OREOPOULOU, V.; THOMOPOULOS, C. D.
Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, Champaign, v. 68, n. 2, p. 109-113, Feb. 1991.

ELLIS, M. D.; BAXENDALE, F. P. Toxicity of seven monoterpenoids to tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) and their honey bee (Hymenoptera: Apidae) hosts when applied as fumigants. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 90, n. 5, p. 1087-1091, Oct. 1997.

ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 130, n. 3, p. 325-337, Nov. 2001.

ESSAWI, T.; SROUR, M. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v. 70, n. 3, p. 343-349, June 2000.

FARAG, R. S.; ABD-EL-AZIZ, O.; ABD-EL-MOEIN, N. M. ; MOHAMED, S. M. Insecticidal activity of thyme and clove essential oils and their basic compounds on cotton leaf worm (*Spodoptera littoralis*). **Bulletin of Faculty of Agriculture, University of Cairo**, Cairo, v. 45, n. 1, p. 207-230, 1994.

GALLI, A. J. B.; LARA, F. M.; BARBOSA, J. C. Resistência de genótipos de sorgo a *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852) (Homóptera: Aphididae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Porto Alegre, v. 19, n. 1, p. 61-71, 1981.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **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.

GOUSSAIN, M. M.; **Efeito da Aplicação do Silício em Plantas de milho no desenvolvimento** 2001. 64 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GRANGER, R.; PASSET, J. *Thymus vulgaris* native of France: chemical varieties and chemotaxonomy. **Phytochemistry**, Oxford, v. 12, n. 7, p. 1683-1691, July 1973.

GUILLEN, M. D.; MANZANOS, M. J. Study of the composition of the different parts of a spanish *Thymus vulgaris* L. plant. **Food Chemistry**, Essex, v. 63, n. 3, p. 373-383, 1998.

GURDIP, S.; SINGH, O. P.; PRASAD, Y. R.; LAMPASONA, M. P.; CATALAN, C.; SINGH, G. Studies on essential oils, Part 33: Chemical and insecticidal investigations on leaf oil of *Coleus amboinicus* Lour. **Flavour and Fragrance Journal**, Sussex, v. 17, n. 6, p. 440-442, Nov./Dec. 2002.

HAGGAG, M. Y.; SHALABY, A. S.; VERZAR-PETRI, G. Thin layer and gas-chromatographic studies on the essential oil from *Achillea millefolium*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 27, n. 4, p. 361-366, 1975.

HERTWIG, F. I. V. **Plantas aromáticas e medicinais**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414 p.

HU, M.; KLOCKE, J. A.; BARNBY, M. A.; CHIU, S.; ZHAO, S.; HU, M. Y. Systemic insecticidal action of azadirachtin, neem seed and chinaberry seed extracts applied as soil drenches to potted plants. **Entomologia Sinica**, Shensi, v. 5, n. 2, p. 177-188, 1998.

HUDAIB, M.; SPERONI, E.; PIETRA, A. M. D.; CAVRINI, V. GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 691-700, July 2002.

IMDORF, A.; BOGDANOV, S.; KILCHENMANN, V.; MAQUELIN, C. Apilife var: a new varroacide with thymol as the main ingredient. **Bee World**, Bucks, v. 76, n. 2, p. 77-83, 1995.

INNOCENZI, P. J.; HALL, D. R.; CROSS, J. V. Components of male aggregation pheromone of strawberry blossom weevil, *Anthonomus rubi* Herbst (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 27, n. 6, p. 1203-1218, Dec. 2001.

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.

JACOBSON, M. **Glossary of plant-derived insect deterrents**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 213 p.

JACOBSON, M. **Insecticides from plants**: a review of the literature, 1954 – 1971. Washington: USDA/ Agricultural Research Service, 1975. p. 19-40 (Compositae e Labiatae).

KARPOUHTSIS, I.; PARDALI, E.; FEGGOU, E.; KOKKINI, S.; SCOURAS, Z. G.; MAVRAGANI-TSIPIDOU, P. Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 4, p. 1111-1115, Apr. 1998.

KASTEN-JUNIOR, P.; PRECETTI, A. A. C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 53, n. 1/2, p. 68-78, jun. 1978.

KÉITA, S. M.; VINCENT, C.; SCHMIT, J. P.; RAMASWAMY, S.; BÉLANGER, A. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 355-364, Oct. 2000.

KIM, S.; PARK, C.; OHH, M.; CHO, H.; AHN, Y. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae) **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 39, n. 1, p. 11-19, 2001.

KOKKALOU, E.; KOKKINI, S.; HANLIDOU, E. Volatile constituents of *Achillea millefolium* in relation to their infraspecific variation. **Biochemical Systematics and Ecology**, Elmsford, v. 20, n. 7, p. 665-670, Oct. 1992.

KRENN, L. Flavonoide verschiedener Schafgarben-Taxa. **Workshop Achillea, Viena**, Drogenreport, in press, 1997.

KUBELKA, W.; KASTNER, U.; GLASL, S.; SAUKEL, J.; JURENITSCH, J. Chemotaxonomic relevance of sesquiterpenes within the *Achillea millefolium* group. **Biochemical Systematics and Ecology**, Elmsford, v. 27, n. 4, p. 437-444, June 1999.

LARINI, L. **Toxicologia dos praguicidas**. São Paulo: Manole, 1999. 230 p.

LEE, S.; PETERSON, C. J.; COATS, J. R. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 39, n. 1, p. 77-85, 2003.

LEE, S.; TSAO, R.; COATS, J. R. Influence of dietary applied monoterpenoids and derivatives on survival and growth of the european corn borer (Lepidoptera: pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 92, n. 1, p. 65-67, Feb. 1999.

LEE, S.; TSAO, R.; PETERSON, C.; COATS, J. R. Insecticidal activity of monoterpenoids to western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae), twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae), and housefly (Diptera: muscidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 90, n. 4, p. 883-892, Aug. 1997.

LENKEY, K. B. Die gegenwertigen handelsdrogen von Flos und herba millefolii. **Pharmacology Acta Helvetiae**, Berne, v. 36, n. 1/23, p. 43-55, 1961.

LIMA, A. C. **Insetos do Brasil. Homópteros**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1942. v. 3, 327 p. (Série didática, 4).

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

LOURENÇO, P. M. L.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; OLIVEIRA, M. M.; DEANS, S. G.; SCHEFFER, J. J. C. Essential oils from hairy root cultures and from plant roots of *Achillea millefolium*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 51, n. 5, p. 637-642, July 1999.

MAFFEI, M.; MUCCIARELLI, M.; SACANNERINI, S. Essential oils from *Achillea* species of different geographic origin. **Biochemical Systematics and Ecology**, Elmsford, v. 22, n. 7, p. 679-687, Oct. 1994.

MANSOUR, S. A.; MESSEHA, S. S.; EL-GENGAIHI, S. E. Botanical biocides: Mosquitocidal activity of certain *Thymus capitatus* constituents. **Journal of Natural Toxins**, Fort Collins, v. 9, n. 1, p. 49-62, Feb. 2000.

MANJUNATHA, M.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; NAZZI, F. Response of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* and its predator *Amblyseius cucumeris* to chrysanthemum volatiles in olfactometer and greenhouse trials. **Insect Science and its Applications**, Nairobi, v. 18, n. 2, p. 139-144, 1998.

MARTINEZ, S. S.; EMDEN, H. F. Growth Disruption, Abnormalities and Mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepdoptera: Noctuidae) Caused by Azadirachtin. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 113-125, jan./mar. 2001.

MOCKUTE, D.; JUDZENTIENE, A. Variability of the essential oils composition of *Achillea millefolium* spp. *Millefolium* growing wild in Lithuania. **Biochemical Systematics and Ecology**, Elmsford, v. 31, n. 9, p. 1033-1045, Sept. 2003.

MORSY, T. A.; SHOUKRY, A.; MAZYAD, S. A.; MAKLED, K. M. The effect of the volatile oils of *Chenopodium ambrosoides* and *Thymus vulgaris* against the larvae of *Lucilia sericata* (Meigen). **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, Cairo, v. 28, n. 2, p. 503-510, 1998.

MOZURAITIS, R.; STRANDEN, M.; RAMIREZ, M. I.; BORG-KARLSON, A. K.; MUSTAPARTA, H. (-)-Germacrene D increases attraction and oviposition by the tobacco budworm moth *Heliothis virescens*. **Chemical Senses**, Oxford, v. 27, n. 6, p. 505-509, July 2002.

NISHINO, C.; KOBAYASHI, K.; MANABE, S.; MORI, A. Antagonists to sex pheromones of the american cockroach. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 92A, n. 1, p. 129-132, 1989.

OSWIECIMSKA, M. *Achillea collina* Becker – ein proazulenhaltiges Taxon von *Achillea millefolium* s. l. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 16, n. 2, p. 201-207, 1968.

PAINTER, R. H. **Insect resistance in crop plants**. New York: MCMillan, 1951. 520 p.

PARIS, R. R.; MOYSE, H. Millefeuille. In: _____. **Précis de matière médicale**. Paris: Masson, v. 3, 1971. p. 420-421.

PASCUAL-VILLALOBOS, M. J.; ROBLEDO, A. Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 8, n. 3, p. 183-194, Sept. 1998.

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

PFADT, R. E. Insect pests of small grains. In: PFADT, R. E. (Ed.) **Fundamentals of applied entomology**, 1978. p. 261-301.

POSER, G. L.; MENTZ, L. A. Diversidade Biológica e Sistemas de Classificação. 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**. 4. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2002. 833 p.

POW, E. M.; BENNISON, J. A.; BIRKETT, M. A.; LUSZNIAK, M. J.; MANJUNATHA, M.; PICKETT, J. A.; SEGERS, I. S.; WADHAMS, L. J.; WARDLOW, L. R.; WOODCOCK, C. M.; VIERBERGEN, G.; TUNCCEDILLA, I. D. Behavioral responses of western flowers thrips (*Frankliniella occidentalis*(pergande)) to extract from meadow-sweet (*Filindela ulmaria* maxim.): laboratory and field bioassays. In: INTERNATIONAL

- SYMPOSIUM ON THYSANOPTERA, 6. , 1999, Antalya, Turkey.
Proceedings. . . Antalya, Turkey: Akdeniz University, 1999. p. 121-128.
- REDDY, M. V. B.; ANGERS, P.; GOSSELIN, A.; ARUL, J. Characterization and use of essential oil from *T. vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus solonifer*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 47, n. 8, p. 1515-1520, Apr. 1998.
- RIGITANO, R. L. O.; CARVALHO, G. A. **Toxicologia e seletividade de inseticidas**. Curso de pós-graduação “latu sensu” (especialização) à distância: Manejo Integrado de Pragas e Receituário Agrônômico. Lavras, UFLA/FAEPE, 2001. 72 p.
- ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. O efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 53-58, 2000.
- ROHLOFF, J.; SKAGEN, E. B.; STEEN, A. H.; IVERSEN, T. Production of yarrow (*Achillea millefolium* L.) in Norway: Essential oil content and quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 12, p. 6205-6209, Dec. 2000.
- ROMAN, E. S.; OLIVEIRA, M. A. S. **Inseticidas piretróides no controle de pragas**. Porto Velho, RO: EMBRAPA/UEPAE, 1983. p. 19. (EMBRAPA-UEPAE. Documentos, n. 1).
- SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente/Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2000. 45 p.
- 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**. 4. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2002. 833 p.
- SAUKEL, J.; LÄNGER, R. Die *Achillea millefolium* Gruppe (Asteraceae) in Mitteleuropa, 1. **Phyton**, Buenos Aires, v. 31, 185-207, 1992a.

SAUKEL, J.; LÄNGER, R. Die *Achillea millefolium* Gruppe (Asteraceae) in Mitteleuropa, 2. **Phyton**, Buenos Aires, v. 32, 47-78, 1992b.

SCHEFFER, M. C. **Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. – mil-folhas.** 1991. 68 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

SECOY, D. M.; SMITH, A. E. Use of plants in control of agricultural and domestic pests. **Economic Botany**, Bronx, v. 37, n. 1, p. 28-57, 1983.

SHAN, A. Y. K. V. **Constituição química e atividade fungitóxicas de extratos de *Thymus vulgaris* L.** 2002. 58 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA JUNIOR, A. A. S.; VERONA, M. L. F. **Plantas medicinais e aromáticas.** Itajaí, SC: Ministério do Meio Ambiente, Fundo Nacional do Meio Ambiente, 1997. 456 p.

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

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. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 4. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2002. 833 p.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of varianicis. **Biometrics**, Raleigh, v. 30, n. 3, p. 505-512, Sept. 1974.

STRANDEN, M.; BORG-KARLSON, A. K.; MUSTAPARTA, H. Receptor neuron discrimination of the germacrene D enantiomers in the moth *Helicoverpa armigera*. **Chemical Senses**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 143-152, Feb. 2002.

SU, H. C. F. Toxicity of a chemical component of lemon oil to cowpea weevils. **Journal of Georgia Entomological Society**, Tifton, v. 11, n. 3, p. 279-301, 1976.

SU, H. C. F.; SPEIRS, R. D.; MAHANY, P. G. Toxicity of citrus oils to several stored product insects: laboratory evaluation. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 65, n. 5, p. 1433-1436, Oct. 1972.

TAHARA, S.; YOSHIDA, M.; MIZUTANI, J.; KITAMURA, C.; TAKAHASHI, S. A sex stimulant to the american cockroach in the Compositae plants. **Agriculture and Biological Chemistry Journal**, Tokyo, v. 39, n. 7, p. 1517-1518, July 1975.

TESKE, M.; TRENTINE, A. M. **Compêndio de fitoterapia – Herbarium**. 3. ed. Curitiba: Editora Herbarium Laboratório Botânico, 1995. 317 p.

THORSEL, W.; TUNON, H. Ortho hydroxy-substituted molecules might be of importance for the prevention of bloodsucking by mosquitoes. **Phytomedicine**, Jena, v. 5, n. 4, p. 307-310, Aug. 1998.

TRABOULSI, A. F.; TAOUBI, K.; EL-HAJ, S.; BESSIERE, J. M.; RAMAL, S. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science**, Oxford, v. 58, n.5, p. 491-495, May 2002.

TSOUKATOU, M.; TSITSIMPIKOU, C.; VAGIAS, C.; ROUSSIS, V. Chemical intra-Mediterranean variation and insecticidal activity of *Crithmum maritimum*. **Zeitschrift fur Naturforschung**, Section C, Biosciences, Tuebingen, v. 56, n. 3-4, p. 211-215, Mar./Apr. 2001.

VERKERK, R. H. J.; NEUGEBAUER, K. R.; ELLIS, P. R.; WRIGHT, D. J. Aphids on cabbage: tritrophic and selective insecticide interactions. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 88, p. 343-349, 1998.

VETTER, S.; FRANZ, C.; GLASL, S.; KASTNER, U.; SAUKEL, J.; JURENITSCH, J. Inheritance of sesquiterpene lactone types within the *Achillea millefolium* complex (Compositae). **Plant Breeding**, Berlin, v. 116, n. 1, p. 79-82, Mar. 1997.

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. 4. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2002. 833 p.

WALLNER, E.; WEISING, K.; ROMPF, R.; KAHL, G.; KOPP, B. Oligonucleotide fingerprinting and RAPD analysis of *Achillea* species: Characterization and long-term monitoring of micropropagated clones. **Plant Cell Reports**, New York, v. 15, n. 8, p. 647-652, Apr. 1996.

WAWROSCH, C.; KOPP, B.; STÖCKL, J.; GLASL, S.; KUBELKA, W. In vitro propagation of tetraploid *Achillea ceretanica* Sennen. **Pharmazie pharmacology**, Frankfurt, v. 7, p. 116-118, 1997.