



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI  
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**ATIVIDADE INSETICIDA, ANTIFÚNGICA E HERBITÓXICA DOS  
ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus citriodora* E *Cymbopogon nardus***

**MARCIO AKIO OOTANI**

**GURUPI TO  
JULHO 2010**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Trabalho realizado junto ao Mestrado em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Gurupi, sob orientação do Professor Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar, com apoio financeiro do Conselho Nacional de Pesquisa CNPq.

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar  
Professor Adjunto  
Universidade Federal do Tocantins  
(Orientador)

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Bergmann Morais Ribeiro  
Professor Titular  
Universidade de Brasília

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Berghem Morais Ribeiro  
Professor Adjunto  
Universidade Federal do Tocantins

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Aurélio Vaz de Melo  
Professor Adjunto  
Universidade Federal do Tocantins

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI**  
**MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**ATIVIDADE INSETICIDA, ANTIFÚNGICA E HERBITÓXICA DOS**  
**ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus citriodora* E *Cymbopogon nardus***

**MARCIO AKIO OOTANI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, em 30 de Julho de 2010, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

**GURUPI TO**  
**JUNHO 2010**

## **DEDICO**

**Á DEUS**

**A Minha Esposa Jessica Batista de Silva**

**Aos meus pais Shigeru Ootani Antonia Ootani (in memorian)**

**Aos meus irmãos Max Shiguetoshi Ootani e Mary Aiko Ootani**

**Ao meu primo Lucas Kosh Naoe**

## **AGRADECIMENTOS**

**A Deus pela força nos momentos difíceis.**

**À Universidade Federal do Tocantins pelo engrandecimento intelectual e profissional.**

**Ao meu orientador Professor Raimundo Wagner de Souza Aguiar pela paciência, incentivo e orientação.**

**Ao professores Luiz Gustavo Guimarães pelo auxílio na identificação e composição dos constituintes dos óleos essenciais**

**A professora Suzana pelo enriquecimento em Fisiologia de Produção**

**Aos Pos-Doutores do PNPD Marcelo Reis: Haroldo, Emersom pelo ensino e orientação.**

**Aos colegas de mestrado: Cíntia Ribeiro de Souza, Aristóteles Capone, Diego de Macedo Rodrigues, Gentil Cavalheiro Adorian, Gilson Araújo de Oliveira, Jaíza Francisca Ribeiro Chagas, Leandro Lopes Cancellier, Luniara Bastos dos Santos, Hugo Valério Moreira Rodrigues, Jhansley Ferreira da Mata, Joseanny Cardoso da Silva, Jucielle Cardoso da Silva e Miréia Aparecida Bezerra.**

**Aos colegas de laboratório de Fitopatologia Dalmácia, Manuel, Evellyne e Daniel pela paciência e compreensão**

**Aos colegas de laboratório Entomologia Mariela, Douglas, Emiliano; Ariadila, Marielle, Suetônio, Dilerval e Antonio Carlos pela paciência e compreensão.**

**Aos professores do mestrado: Hélio Bandeira Barros, Gil Rodrigues dos Santos, Ildon Rodrigues do Nascimento, Joenes Mucci Pelúzio, Aurélio Vaz de Melo, Antônio Clementino dos Santos, Aloísio Freitas Chagas Júnior, Eduardo Andrea Lemus Erasmo, Elisângela Elena Nunes Carvalho, Flávio Sérgio Afférri, Renato de Almeida Sarmento, Rodrigo Ribeiro Fidelis, Saulo de Oliveira Lima; Leonardo Santos Collier, Henrique Guilhon de Castro e Tarcisio Castro Alves de Barros Leal.**

## INDICE

<b>ATIVIDADE INSETISIDA, ANTIFUNGICA E HERBITOXICA DOS OLEOS ESSENCIAIS DE <i>Eucalyptus citrodora</i> E <i>Cymbopogon nardus</i>.....</b>	<b>12</b>
<b>RESUMO DA DISSERTAÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>14</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. REVISÃO LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
2.1. Citronela.....	18
2.2. Eucalipto.....	19
2.3. Metabolitos secundários.....	20
2.4. Efeitos dos compostos secundários.....	26
2.5. Métodos de extração de óleos essenciais.....	27
2.5.1. Arraste por vapor.....	27
2.5.2. Extração por solvente orgânico apolares.....	28
2.5.3. Enfloração.....	28
2.5.4. Fatores que afetam a extração.....	29
2.6. Utilizações agrônômica dos óleos essenciais.....	30
2.6.1. Controle de insetos de grãos armazenados.....	30
2.6.2. Atividade Fungitoxica.....	32
2.6.3. Atividade Herbitoxica.....	32
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>34</b>
<b>CAPITULO I.....</b>	<b>49</b>
<b>AVALIAÇÃO DE BIOATIVIDADE DOS OLEOS ESSENCIAIS DE <i>Eucalyptus citriodora</i> E <i>Cymbopogon nardus</i> EM <i>Sitophilus zeamais</i> Mots. (Coleóptera: curculionidae).....</b>	<b>48</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>49</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>50</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>2. MATERIAIS E METODOS.....</b>	<b>53</b>
2.1. Local.....	53
2.2. Criação do <i>Sitophilus zeamais</i> .....	53

2.3. Obteção dos óleos essenciais.....	53
2.4. Identificação dos compostos Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa(CG/EM).....	53
2.5. Bioensaio Concentração letal.....	55
2.6. Bioensaio Tempo Letal.....	56
2.7. Bioensaio de repelência.....	56
2.8. Bioensaio de perda de massa.....	57
3. RESULTADOS.....	58
4. DISCUSSÃO.....	67
5. CONCLUSÃO.....	70
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>77</b>
<b>AVALIAÇÃO DO EFEITO FUNGIOSTÁTICO DOS OLEOS ESSENCIAIS DE <i>Eucaplyptus citriodora</i> E <i>Cymbopogon nardus</i>.....</b>	<b>77</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>78</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>79</b>
1. INTRODUÇÃO.....	80
2. MATERIAIS E METODOS.....	82
2.1. Local.....	82
2.2. Obtenção dos Fungos Fitopatogênicos.....	82
2.3. Obtenção dos óleos essenciais.....	82
2.4. Identificação por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (CG/EM).....	83
2.5. Bioensaio de inibição micelial.....	83
2.6. Bioensaio fumigação.....	83
2.7. Avaliação do (ICM) Índice de Crescimento Micelial.....	85
3. RESULTADOS.....	86
4. DISCUSSÃO.....	97
5. CONCLUSÕES.....	100
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101



<b>CAPITULO III.....</b>	<b>107</b>
<b>AVALIAÇÃO ATIVIDADE HERBITÓXICA DE ÓLEO ESSENCIAIS DE <i>Eucalyptus citriodora</i> E <i>Cymbopogon nardus</i> NO CONTROLE DO CAPIM COLCHÃO E CAPIM CARRAPICHO.....</b>	<b>107</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>108</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>109</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>110</b>
<b>2. MATERIAL E METODOS.....</b>	<b>112</b>
<b>2.1. Local.....</b>	<b>112</b>
<b>2.2. Obtenção dos óleos essenciais.....</b>	<b>112</b>
<b>2.3. Identificação dos compostos Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (CG/EM).....</b>	<b>112</b>
<b>2.4. Bioensaios.....</b>	<b>112</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>114</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>118</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>119</b>

## ÍNDICE DE FIGURA

### INTRODUÇÃO REVISÃO

Figura 1. Capim citronela <i>Cytopogon nardus</i> .....	19
Figura 2. Eucalipto citriodora <i>Eucalyptus citriodora</i> .....	20
Figura 3. Via metabólica secundaria ênfase para terpenoides e fenilpropanóides.....	22
Figura 4. Via da biossíntese de fenilproanoides.....	22
Figura 5. Via da biossíntese dos terpenoides.....	23
Figura 6. Estruturas de alguns terpenos e fenilpropanóides comumente encontrados em óleos essenciais de <i>E. citriodora</i> e <i>C. nardus</i> .....	26
Figura 7. Aparelho de hidrodestilação tipo clevenge (arraste de vapor).....	27

### CAPITULO I

Figura 1. Bioensaio de repelência dos óleos essencial de <i>C. nardus</i> e <i>E. citriodora</i> e do composto Citronelal.....	62
Figura 2. Emergência de adultos de <i>S. zeamais</i> a partir de grãos de milhos pulverizados com óleos essências.....	65
Figura 3 Efeito do óleo essencial de <i>E. citriodora</i> e <i>C. nardus</i> na proteção da massa de grão do ataque de <i>S. zeamais</i> .....	66

### CAPITULO II

Figura 1 Esquema de representativo do bioensaios de inibição.....	85
Figura 2. Inibição do crescimento micelial dos fungos <i>Aspergillus</i> sp, <i>Colletotrichum musae</i> e <i>Pyricularia grisea</i> cultivado em BDA, .....	87
Figura 3. Efeito do óleo essencial <i>C. nardus</i> e na coloração dos fungos <i>Aspergillus</i> sp, <i>Colletotrichum musae</i> cultivado de cultura Batata Dextrose Agar (BDA).....	88
Figura 4. Avaliação do índice crescimento micelial (ICM) para os fungos <i>Aspergillus</i> sp, <i>P. grisea</i> e <i>C. musae</i> .....	96

### CAPITULO III

Figura 1. Efeito dos óleos essências a 20% A= *C. nardus*; B= *E. citriodora*; C= Composto citronelal.....115

## INDICE DE TABELA

### CAPITULO I

Tabela 1. Compostos majoritários identificados de óleos essenciais de <i>E. citriodora</i> e <i>C. nardus</i> .....	55
Tabela 2. Concentração letal CL <sub>50</sub> necessário para controlar 50% e 95% da população sobre o efeito dos óleos essenciais e do composto majoritário citronelal.....	59
Tabela 3. Estimativa dos coeficientes da equação $Y=\beta_0+\beta_1*x$ .....	59
Tabela 4. Tempo (h) necessário para controlar 50% e 95% da população sobre o efeito dos diferentes óleos essenciais <i>E. citriodora</i> e <i>C. nardus</i> e o composto majoritário citronelal na mortalidade de <i>S. zeamais</i> .....	61
Tabela 5. Estimativa dos coeficientes da equação $Y=\beta_0+\beta_1*x$ para predizer o tempo letal para controlar 50 e 95% da população sobre o efeito dos diferentes óleos essenciais <i>E. citriodora</i> e <i>C. nardus</i> e o composto majoritário citronelal na mortalidade de <i>S. zeamais</i> .....	62

### CAPITULO II

Tabela 1. Análise do CI <sub>50</sub> (Concentração de Inibição de 50% do crescimento micelial dos fungos) para os fungos <i>Aspergillus</i> sp, <i>Colletotrichum musae</i> e <i>Pyricularia grisea</i> .....	90
Tabela 2. Estimativa dos coeficientes da equação $\hat{Y}=\beta_0 + \beta_1x$ para predizer a concentração de inibição (CI <sub>50</sub> ) dos fungos.....	91
Tabela 3. Análise do CI <sub>50</sub> (Concentração de Inibição de 50% do crescimento micelial dos fungos) por fumigação.....	93
Tabela 4. Estimativa dos coeficientes da equação $\hat{Y}=\beta_0 + \beta_1x$ para predizer a concentração de inibição (CI <sub>50</sub> ).....	94

### CAPITULO III

Tabela 1. Valores de fitointoxicação (FITO), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR) e número de perfilhos (NPERF) de plantas de Capim-colchão.....	116
Tabela 2. Valores de fitointoxicação (FITO), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR) e número de perfilhos (NPERF) de plantas de Capim-carrapicho.....	117

**ATIVIDADE INSETICIDA, ANTIFÚNGICA E HERBITÓXICA DOS ÓLEOS  
ESSENCIAIS DE *Eucalyptus citriodora* E *Cymbopogon nardus***

## RESUMO DA DISSERTAÇÃO

### ATIVIDADE INSETICIDA, ANTIFÚNGICA E HERBITÓXICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus citriodora* E *Cymbopogon nardus*.

Marcio Akio Ootani<sup>1</sup>, Raimundo Wagner de Souza Aguiar<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Acadêmico do Curso de Mestrado da UFT – Gurupi - TO; <sup>2</sup>Prof. Orientador, – UFT, Gurupi – TO.

Os resultados da CG-EM (Cromografo de Gás e Espectrometro de Massa) mostraram 14 componentes, no oleo de *C. nardus* obteve citronelal (36,6 %), geraniol (25,56 %) e citronelol (13,10 %) em *E. citriodora*, citronelal (61,78 %) e Isopulegol (12,52 %). Foram determinadas as curvas concentração resposta em concentrações crescente dos óleos para predizer CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> (Concentração letal) e as curvas do tempo resposta para *S. zeamais* mediante bioensaios com períodos crescentes de exposição do *S. zeamais* à concentração dos óleos essencial e o composto citronelal. Verificou-se que os TL<sub>50</sub> TL<sub>95</sub> (Tempo letal) reduziram com o aumento da concentração dos óleos. O composto citronelal foi mais tóxico para *S. zeamais* de que os óleos essenciais e excesses efeito sobre a repelencia. No entanto, observa menor efeito sobre a emergência dos insetos, com diferenças significativas entre óleos *E. citriodora* e *C. nardus*. A atividade antifúngica dos óleos de *E. citriodora* e *C. nardus* e de composto majoritário citrolelal para os fungos *Aspergillus sp*, *Pyricularia grisea* e *C. musae*, tanto em contato direto como por fumigação, impediu o desenvolvimento micelial, com diferenças signigicativa na velocidade do crescimento ICM (Índice do crescimento micelial) e entre os óleos essenciais, com alterações na coloração dos micélios. A fitotoxicação óleos de *E. citrodora* e *C. nardus* e do composto majoritário citrolelal para plantas daninhas o capim-colchão (*Digitaria horizontalis*) e capim carrapicho (*Cenchrus echinatus*). Nos bioensaios de 10 e 20% dos óleos essenciais e o composto citronelal, que apresentaram efeito de fitotoxicidade para as planta daninhas. Sendo observado que após 1 (HAT) Horas após o tratamento o tecido vegetal apresentava efeito de fitotoxicidade o tratamento que teve melhor resultado foi o óleo de citronela onde houve morte da planta em 24 (HAT). Concluímos que tanto os óleos como os constituintes podem ser utilizados como futuros promissores na criação de biomoleculas para o combate das pragas e doenças.

**Palavras-chaves:** *S. zeamais*; fungos; fitotoxicidade; óleo essencial.

## ABSTRACT

### INSECTICIDAL ACTIVITY, ANTIFUNGAL AND HERBITÓXICA OF *Eucayptus citriodora* AND *Cymbopogon nardus* OIL ESSENTIAL

Marcio Akio Ootani<sup>1</sup>, Raimundo Wagner de Souza Aguiar<sup>2</sup>. (<sup>1</sup>Acadêmico do Curso de Agronomia da UFT – Gurupi - TO; <sup>2</sup>Prof. Orientador, – UFT, Gurupi – TO.

CG-MS results showed 14 composites where citronellal (36,6 %) in *C. nardus*, and (61,78 %) in *E. citriodoros*, geraniol (25,56 %) and citronelol (13,10%), and Isopulegol (11,89 %) were the majority of constituents. The bioativity for *S. zeamais* by essential oils of *E. citriodora*, and *C. nardus*, and the citronelal composit were utilized in diferent concentrations to predict CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> e o TL<sub>50</sub> e TL<sub>95</sub>. The Oils' concentration outcome was determined at repellence, at the number of emerged insects on pulverized grains, and at the loss of grain mass by pulverization with citronella essential oil. The bioexperiments of three phitopatogenic fungus, were evaluated in different concentrations by testing to inhibit micelial growth and by fumigation to predict IC<sub>50</sub> (Inhibit concentration of 50%) and ICM (Micelial growth index). By the oils' herb-toxicity affect was evaluated the essential oils' phitoxicity and of composites in 12 and 24 hour periods (HAT) Hours After Treatment phitoxicity was evaluated by the dry above ground plant mass and dry plant root mass, and the number shoots sprouted afterwards. It was observed that bioexperements toxicity against *S. zeamais* on stored grains had a higher affect than citronellal had from the oils of eucalyptus and citronella; however for the repellence, citronellal demonstrated having low persistence as time increases because of being highly volatile; the mass loss of non treated grains was 2.74%; and for treated grain there was high significance in stored grain by less mass lost. In fungicidal bioexperements citronellal inhibited fungus at a lower concentration compared with both oils, However, among the essential oils, citronella was the treatment with higher inhibition affect, perhaps there was synergism among the minor composites. In herbicide bioexperiments, all testing of 10 and 20% concentration of essential oils as well as citronellal composite had the phitoxicity affect of totally killing the plant; after (HAT) the vegetal tissue showed phitoxicity affects;. The treatment with the best results was citronella oil, where there was a dead plant within 24 hours (HAT). It is concluded that both the oils and composites can be utilized as future protection in creating biomolecules to control pests and diseases.

**Keywords:** *S. zeamais*; fungus; fitotoxicidade; óleo essencial

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização indiscriminada de pesticidas e fungicidas sintéticos tem elevado contaminação do o meio ambiente e a resistência de insetos-praga, fungos fitopatogênicos e plantas daninhas. Os produtos naturais vêm sendo uma alternativa para o controle de doenças, insetos-pragas (SINGH et al., 2003; PAWAR AND THAKER, 2006; ABAD et al., 2007; BATISH et al., 2004, 2007). Vários óleos essenciais têm demonstrado efeito sobre fungos fitopatogênicos como *Coletrotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani* (TAKATSUKA et al., 2003; BALBI-PEÑA et al., 2006; PEREIRA et al., 2006), e bioatividade para insetos praga como insetos de grãos armazenados (*Callosobruchus maculatus* e *Sitophilus zeamais*), ácaros (*Tetranychus urticae*), aphideos (*Hyadaphis foeniculi*) (SOPP et al. 1990; PILMOOR et al. 1993; BASEDOW, 2002; CASTIGLIONI et al., 2002) e atividade como bioherbicidas *Achyranthes aspera*, *Cassia occidentalis*, *Parthenium hysterophorus*, *Echinochloa crus-galli*, e *Ageratum conyzoides*. (ENS et al., 2009).

Compostos de origem natural com propriedades inseticidas vêm sendo alvos para o desenvolvimento de novos produtos (SUDARAM et al., 1995; OLIVEIRA et al., 1999). Dentre os compostos naturais bioinseticidas podemos citar piretroides, extraído do crisântemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) (Trev.), a nicotina proveniente de *Nicotiana tabacum* L., a rotenona, extraída de *Derris sp.*, *Lonchocarpus sp.* e a azadiractina, isolada de *Azadirachta indica* A. Juss (ROEL, 2001). Entre outros tipos de compostos destacam-se os Sesquiterpenos e monoterpenos com bioatividade para insetos praga, efeito fugistático e atividade fitotóxica em plantas daninhas.

Estudos demonstram bioatividade de óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus* para insetos de grãos armazenados (SHASANY et al., 2000), a inibição de fungos fitopatogênicos (VILELA et al., 2009) e atividade bioherbicidas (EL-ROKIEK & EID, 2009). Contudo, Clay et al. (2005), verificou que há diferença na bioatividade dos óleos essenciais para o efeito fugistático esta função do estágio de desenvolvimento da planta, localidade e aspectos fitotécnicos e genético. Dessa forma, a toxicidade do óleo pode apresentar diferença significativa em função da localidade de plantio, influenciando na variação da composição dos óleos essenciais (EL-ROKIEK & EID, 2009), que pode está associada diretamente à perda da capacidade fotossintética da planta (BATISH et al., 2004).

A atividades tóxicas dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* estão associadas aos compostos majoritários como citronelal, citronelol e geraniol entre outros constituintes,



denominados de um modo geral como monoterpenos (SHASANY et al., 2000). Esses compostos têm sido utilizados contra insetos, como agente pesticida, antibacteriana, anti-séptico e fungicida (RAJA et al., 2001; BROOKER e KLEINIG, 2006). A concentração dos compostos majoritários é determinante na toxicidade apresentada pelos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus*. Entre os constituintes dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* destaca o citronelal com atividade inibitória verificada para *Aspergillus sp*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* (SU et al., 2006; SALGADO et al., 2003) sendo a sua concentração é dependente dos fatores abióticos, bióticos e genéticos da planta (PANIZZI e PARA, 1991; SIMÕES e SPTIZER, 2004).

Considerando a importância da praga na agricultura e os problemas ocasionados pelos produtos químicos, os produtos naturais vêm tornando uma alternativa de controle contra esses organismos. Dessa maneira, este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade inseticida, antifúngica e herbicida dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus*.

## 2. REVISÃO LITERATURA

Na literatura tem sido relatado inúmeras de plantas com propriedade inseticida, anti-nutricional e de repelência para insetos de produtos armazenados (SUBRAMANYAM e HAGSTRUM, 2000; TAPONDJOU et al., 2005; JAYASEKARA et al., 2005). Os óleos essenciais são considerados fontes naturais para o desenvolvimento de novos produtos. No entanto, grande parte da flora brasileira ainda não foi estudada, sendo uma alternativa promissora para descoberta de novos compostos químicos, a partir dessas plantas uma alternativa de controlar o desenvolvimento de fitopatógenos (STANGARLIN et al., 1999). A denominação “óleos essenciais” define um grupo de substâncias naturais de variável poder aromatizante, de composição mais ou menos complexa que faz parte do organismo de diversas espécies vegetais e de algumas espécies animais, das quais pode ser extraído segundo processamento específico (ZAMBONI, 1983). De modo geral, são misturas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Devido ao aroma agradável e intenso da maioria dos óleos voláteis, também são designados como óleos essenciais (BAUER & GARBE, 1985; SIMÕES, 1999).

A exploração de óleos essenciais começou no Oriente antes de Cristo, tendo bases de produção na Pérsia, Índia, Egito e em outros países da região. No decorrer do tempo surgiram destilarias de óleos essenciais pelo mundo afora, mas somente com o advento da química fina a atividade tomou impulso, permitindo a manipulação de produtos com várias aplicações científicas (CHAVES, 1994). Neste caso, os óleos que contêm uma porcentagem alta de um único composto, são usados para o isolamento e purificação do composto majoritário. A presença dos componentes na essência, em maiores ou menores quantidades, afeta diretamente sua qualidade, ditando as possibilidades do aproveitamento industrial e, por consequência, o valor comercial do óleo bruto (ZAMBONI, 1983 e CRAVEIRO & QUEIROZ, 1993).

Os óleos essenciais são constituídos principalmente por fenilpropanóides e terpenóides, sendo que estes últimos preponderam. Estas classes de substâncias são freqüentemente alvos de interesse de pesquisadores que vêem neles uma fonte promissora de princípios ativos diretos ou precursores na síntese de outros compostos de maior importância e valor agregado, como por exemplo, o safrol, eugenol, citral, citronelal, dentre outros. Embora a maior utilização ocorra nas áreas de alimentos como condimentos e aromatizantes em alimentos e bebidas, cosméticos na composição de perfumes e produtos de higiene e farmacêutica como fonte de matéria prima, também são empregados “in natura” em

preparações galênicas simples na medicina alternativa, como a aromaterapia, por exemplo, e até mesmo para aromatização de ambientes (CRAVEIRO & QUEIROZ, 1993; BERMUDEZ, 1995; SIMÕES, 1999).

A exploração da bioatividade antimicrobiana e/ou elicitadoras de defesa utilizando os compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas medicinais, constitui-se em mais uma forma potencial para controle de fungos e bactérias fitopatogênicas (SCHWAN-ESTRADA & STANGARLIN, 2005). Os óleos essenciais, obtido a partir de plantas medicinais conhecidas, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com característica de elicitores.

## 2.1 Citronela

O capim citronela *Cymbopogon nardus* (L.) tem origem no Ceilão e na Índia, é utilizada na Indonésia, como chá calmante. O genero *Cymbopogon* pertence à família Poaceae, subfamília Panicoideae, constituído de oitenta e cinco espécies (CRAVEIRO et al., 1981). Erva perene, cespitosa, de 0,80 -1,20 m de altura (Figura 1). Os colmos são eretos, lisos, semilenhosos, maciços, coloração verde-clara, colmos longos sobre um rizoma curto amarelo-escuro, com inúmeras raízes fibrosas e longas. (CASTRO e RAMOS, 2003) O capim citronela (*C. nardus*) possui na sua composição óleo essencial com alto teor de geraniol e citronelal. Esse óleo possui atividade anti-septica, fungistática e antibactericida (MANN, 1995). É muito utilizada na indústria para produção de repelentes e em hortas de plantas medicinais, também seu óleo essencial é muito empregado como aromatizante e material de partida para síntese de vitamina A (LORENZI e MATOS, 2002).

O óleo essencial do capim citronela é utilizado na fabricação de perfumes e cosméticos, sendo um ótimo repelente de insetos, com ação inseticida, fungicida e bactericida (TRONGTOKIT et al., 2005; WONG et al., 2005). Segundo Martins et al. (2006), vários fatores podem influenciar na produção dos óleos essenciais, tais como: genéticos, ambientais (temperatura, luz, água, solo, altitude, latitude, etc.) e fitotécnicos (época e forma de colheita, espaçamento, transporte, secagem, armazenamento, etc.). Fatores ambientais, como a fertilidade do solo influencia diretamente na produção de metabolitos secundários da planta de citronela (CASTRO et al., 2004). A luz é outro fator ambiental que pode influenciar na produção de metabolitos secundários, como a intensidade da radiação solar pode ser mais bem

entendida, considerando-se que as reações biossintéticas dependem de suprimento de esqueletos carbônicos, realizados por meio do processo fotossintético, e de compostos energéticos (ATP, NADPH e acetil-SCoA), que participam da regulação dessas reações (BUCHANAN et al., 2000;TAIZ e ZAIGER, 2004).



Figura 1. Capim citronela (*Cymbopogon nardus*)

## 2.2 Eucalipto

A palavra eucalipto deriva do grego *eu* (bem) e *kalypto* (cobrir) em alusão ao opérculo que cobre as sementes até que estejam totalmente desenvolvidas (GUENTHER, 1977). *Eucalyptus* é um importante gênero pertencente à família Myrtaceae, composto por aproximadamente 600 a 700 espécies, sendo a maioria nativa do continente australiano e de algumas ilhas ao norte, tendo sido introduzidas espécies em mais de 90 países desde 1850. Devido ao grande número de espécies, este gênero foi dividido em subgêneros, sendo os principais: *Corymbia* (30 espécies); *Monocalyptus* (80 espécies) e *Symphomyrtus* (250 espécies) (AMEN-CHEN et al., 1997; FABROWSKI, 2002; MONTAGU et al., 2003).

O gênero *Eucalyptus* foi introduzido no Brasil em 1865, inicialmente com a espécie *Eucalyptus globulus* Labillardiere, da qual se utilizam as folhas pecioladas e lanceoladas para extração de óleo essencial (GUENTHER, 1977; COSTA, 1986). O *Eucalyptus citriodora* (Hook) é originário da Austrália, destaca tanto por seu valor econômico como do ponto de vista de suas virtudes medicinais. Este gênero apresenta as seguintes propriedades terapêuticas: antifúngica, antisséptica, adstringente, antiinflamatória, antibacteriana,

cicatrizante e desinfetante (ESTANISLAU et al., 2001). Além desses efeitos verifica que *E. citriodora* pode ser usado como forma alternativa para controle de fitopatogenos como antracnose em pepino, (*Colletotrichum lagenarium*) na concentrações de 20 % o extrato não autoclavado e 1 % do extrato aquoso autoclavado, Para o extrato não autoclavado houve 75 % de inibição da germinação de esporos em 25 % do extrato aquoso e inibição total da formação de apressórios em 15 % do extrato alcoólico (BONALDO et al.,2004).



Figura 2. Eucalipto citriodora *Eucalyptus citriodora*

### 2.3 Metabolitos secundários

Todo o metabolismo vegetal está condicionado aos processos fotossintéticos. Destes, resultam as substâncias do metabolismo primário, as quais irão originar os metabólitos secundários (Figura 3). As reações fotossintéticas podem ser agrupadas em duas categorias: reações de claro ou fase luminosa (fotólise da água ou Reação de Hill, atualmente chamada de reações de tilacóide) na qual a energia solar será absorvida por moléculas de clorofila e transferida destas para moléculas armazenadoras de energia (adenosina trifosfato - ATP e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato - NADPH); e reações de escuro ou fase bioquímica (Reação de Calvin, atualmente chamada de reações de estroma), nas quais as moléculas de ATP e NADPH servirão, respectivamente, como fonte de energia e força redutora no processo de fixação do dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), o qual será convertido principalmente em glicose (VICKERY e VICKERY, 1981; SANTOS, 2004).

A maioria dos metabólitos secundários é formada no metabolismo da glicose. A glicose é convertida em moléculas de ácido pirúvico, que podem seguir duas vias diferentes. Na primeira, moléculas de piruvato entram na via do ácido chiquímico para formar todos os metabólitos secundários aromáticos (alcalóides indólicos, quinolínicos, isoquinolínicos; ligninas e lignanas; cumarinas e taninos hidrossolúveis). Na segunda, o piruvato continua sendo oxidado até a formação de moléculas de acetil-coenzima A (acetil-coA). Essas podem seguir três vias diferentes: via do ciclo do ácido cítrico, via do mevalonato e via da condensação do acetato, formando os chamados derivados do acetato. Na via do ciclo do ácido cítrico, serão formados os alcalóides pirrolidínicos, tropânicos, pirrolizidínicos, piperidínicos e quinolizidínicos. A via do mevalonato origina os terpenóides e os esteróis. A combinação de uma unidade do ácido chiquímico, e uma ou mais unidades do acetato ou derivados deste, poderá resultar na produção de antraquinonas, flavonóides e dos taninos condensados (SANTOS, 2001; OLIVEIRA, 2003).

Metabólitos secundários de plantas formam um grupo de diversas moléculas que estão envolvidas na adaptação das plantas formam seu ambiente, mas não fazem parte dos caminhos bioquímicos primários do crescimento e da reprodução celular. Em geral, em plantas; compostos secundários, fitoquímicos, fatores antinutricionais e xenobióticos são termos utilizados na literatura para se referir a esses grupos de compostos. Dentre os compostos tem se relatado mais de 24.000 estruturas, incluindo muitos compostos que têm efeitos antinutricionais e tóxicos para mamíferos. Este número não inclui os compostos polifenólicos oligoméricas (proantocianidinas e taninos hidrolisáveis), Algumas plantas superiores os metabólitos secundários incluem inibidores da protease, lecitinas, alcalóides, aminoácidos não proteínas, glicosídeos, cianogênicos, saponinas, e taninos. Estes compostos estão envolvidos na defesa contra herbívoros e patógenos, regulação da simbiose, controle da germinação de sementes, inibição de espécies de plantas (alelopatia), portanto, são parte integrante das interações de espécies em comunidades vegetais e animais e a adaptação das plantas ao seu ambiente (MAKKAR et al., 2007).

Dentre esses compostos, estão em sua maior parte por terpenóides e fenilpropanóides, sendo os primeiros mais freqüentes (SIMÕES & SPITZER, 2004). Os fenilpropanóides são formados por um esqueleto carbônico com um anel aromático ligado a uma cadeia de três carbonos (CROTEAU et al., 2000, HEINRICH et al., 2004), enquanto que os terpenóides são formados por unidades de isopreno de cinco carbonos (Figura 2) (CROTEAU et al., 2000).

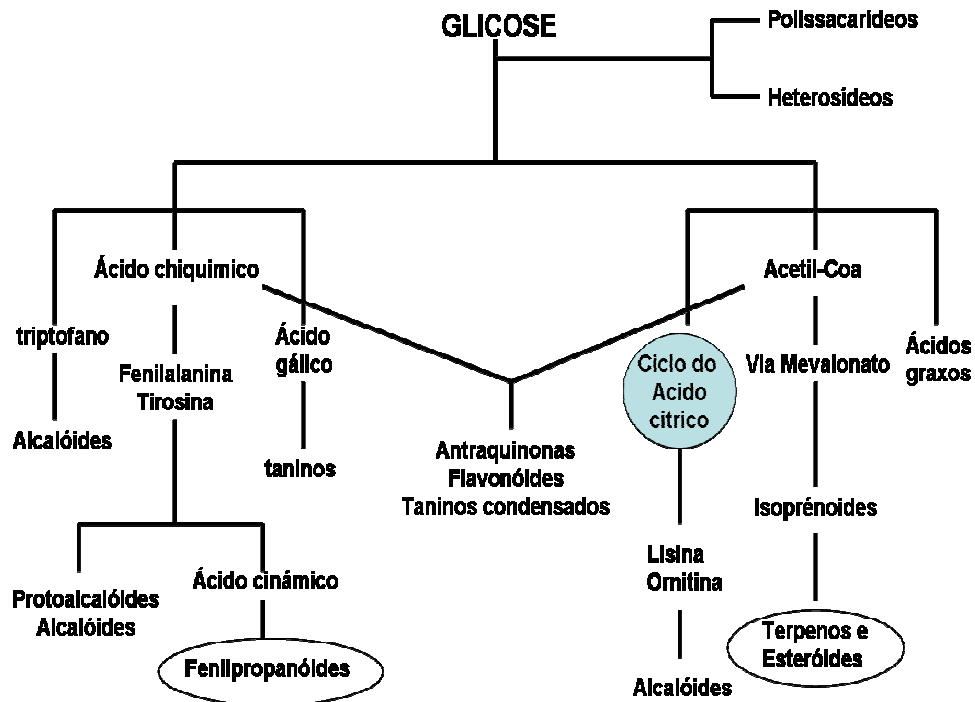


Figura 3. Via metabólica secundaria ênfase para terpenoides e fenilpropanóides (SANTOS, 2004)

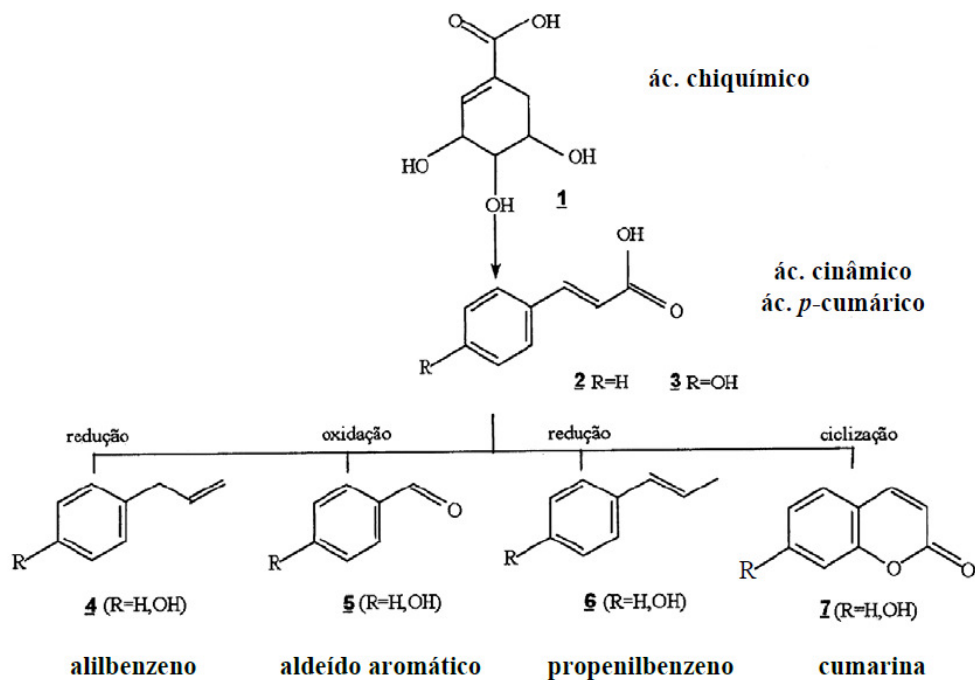


Figura 4. Via da biossíntese de fenilproanoides (SIMÕES & SPITZER, 2004).

Os fenilpropanóides originam-se a partir da via do ácido chiquímico, em que este origina o aminoácido aromático fenilalanina, que pela ação da enzima fenilalanina amonialiase (PAL) origina o ácido cinâmico, que por meio de reduções enzimáticas dá origem aos alilbenzenos e propenilbenzenos, esqueletos carbônicos dos fenilpropanóides (Figura 3) (SIMÕES & SPITZER, 2004). São exemplos desta classe de compostos: o eugenol, obtido do óleo volátil dos botões florais de *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry, popularmente conhecido como cravo (SRIVASTAVA et al., 2004), o trans-anetol e o estragol, presentes no óleo de *Foeniculum vulgare* Mill., popularmente conhecido como funcho (POLITEO et al., 2006), o metil-eugenol, presente no óleo de *Melaleuca bracteata* F. Muell., e a miristicina, presente no óleo dos frutos de *Myristica fragrans* Houtt. (ADAMS, 2007). Também são comumente encontrados nas famílias Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae e Rutaceae (BAKKALI et al., 2008).

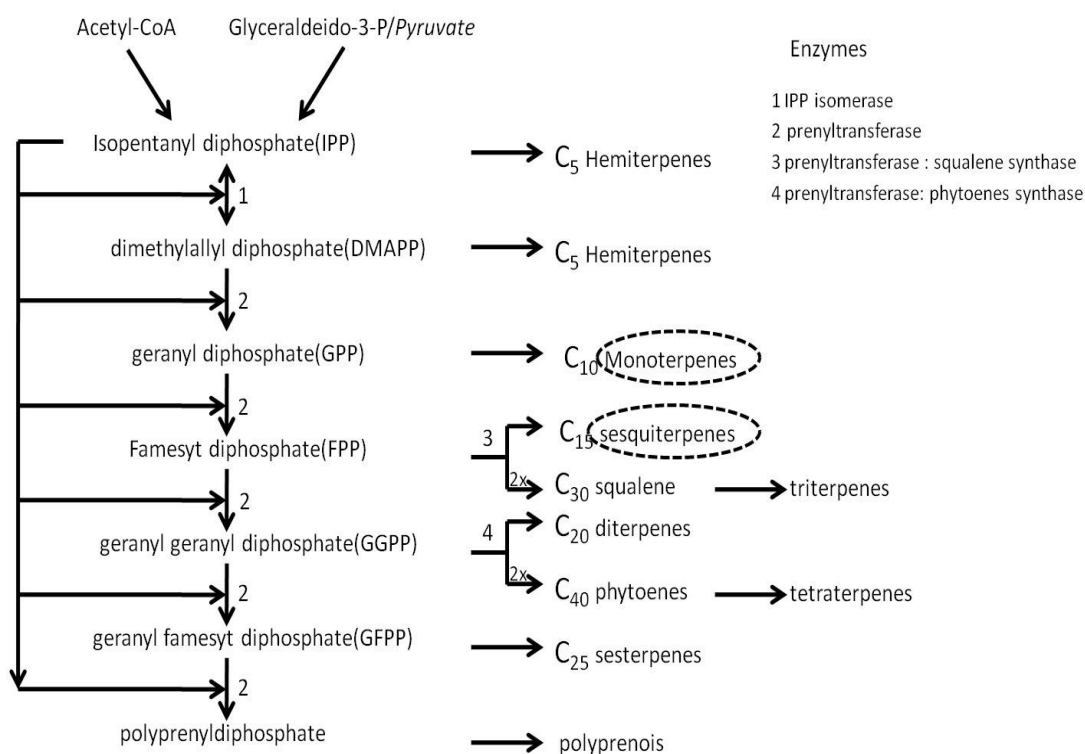


Figura 5. Via da biossíntese dos terpenoides (VERPOOTE, 2000)

Os terpenóides são formados a partir de duas vias de biossíntese: a via do mevalonato, responsável pela formação dos sesquiterpenos (C<sub>15</sub>) e triterpenos (C<sub>30</sub>), que ocorre no citosol e cujos precursores são piruvato e acetil-coenzima A; e a via alternativa, conhecida como via do metileritritol fosfato (MEP), que origina os monoterpenos (C<sub>10</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>) e



tetraterpenos ( $C_{40}$ ) e ocorre nos plastídeos e cujos precursores são piruvato e gliceraldeído-3-fosfato (AHARONI et al., 2006; CROTEAU et al., 2000; VERPOORTE, 2000).

Em ambas as vias, há a formação do precursor difosfato de isopentenila (IPP), com 5 carbonos, que deve ser convertido em seu isômero difosfato de dimetilalila (DMAPP), através da enzima IPP isomerase, para iniciar a formação dos terpenos. Para a formação dos monoterpenos ( $C_{10}$ ), uma unidade de IPP é adicionada a uma de DMAPP, por meio de uma preniltransferase, formando o seu precursor difosfato de geranila (GPP), com dez carbonos. A adição de uma unidade de IPP ao GPP, através de uma preniltransferase, forma o difosfato de farnesila (FPP), com 15 carbonos, a partir do qual se formam os sesquiterpenos ( $C_{15}$ ). A adição de uma unidade de IPP ao FPP, por sua vez, forma o difosfato de geranylgeranila (GGPP), com 20 carbonos, que dá origem aos diterpenos ( $C_{20}$ ). Os demais terpenos são formados da mesma forma, por adição de uma unidade de IPP aos seus respectivos precursores, de acordo com a Figura 4. (VERPOORTE, 2000).

Os diversos terpenos apresentam funções variadas nos vegetais. Os monoterpenos e sesquiterpenos são constituintes dos óleos voláteis, sendo que os primeiros atuam na atração de polinizadores. Os sesquiterpenos, em geral, apresentam funções protetoras contra fungos e bactérias, enquanto muitos diterpenóides dão origem aos hormônios de crescimento vegetal. Os triterpenóides e seus derivados, os esteróides, apresentam função protetora contra herbívoros; alguns são antimetabólitos e outros atuam na germinação das sementes e na inibição do crescimento da raiz (VICKERY e VICKERY, 1981; CASTRO et al., 2007).

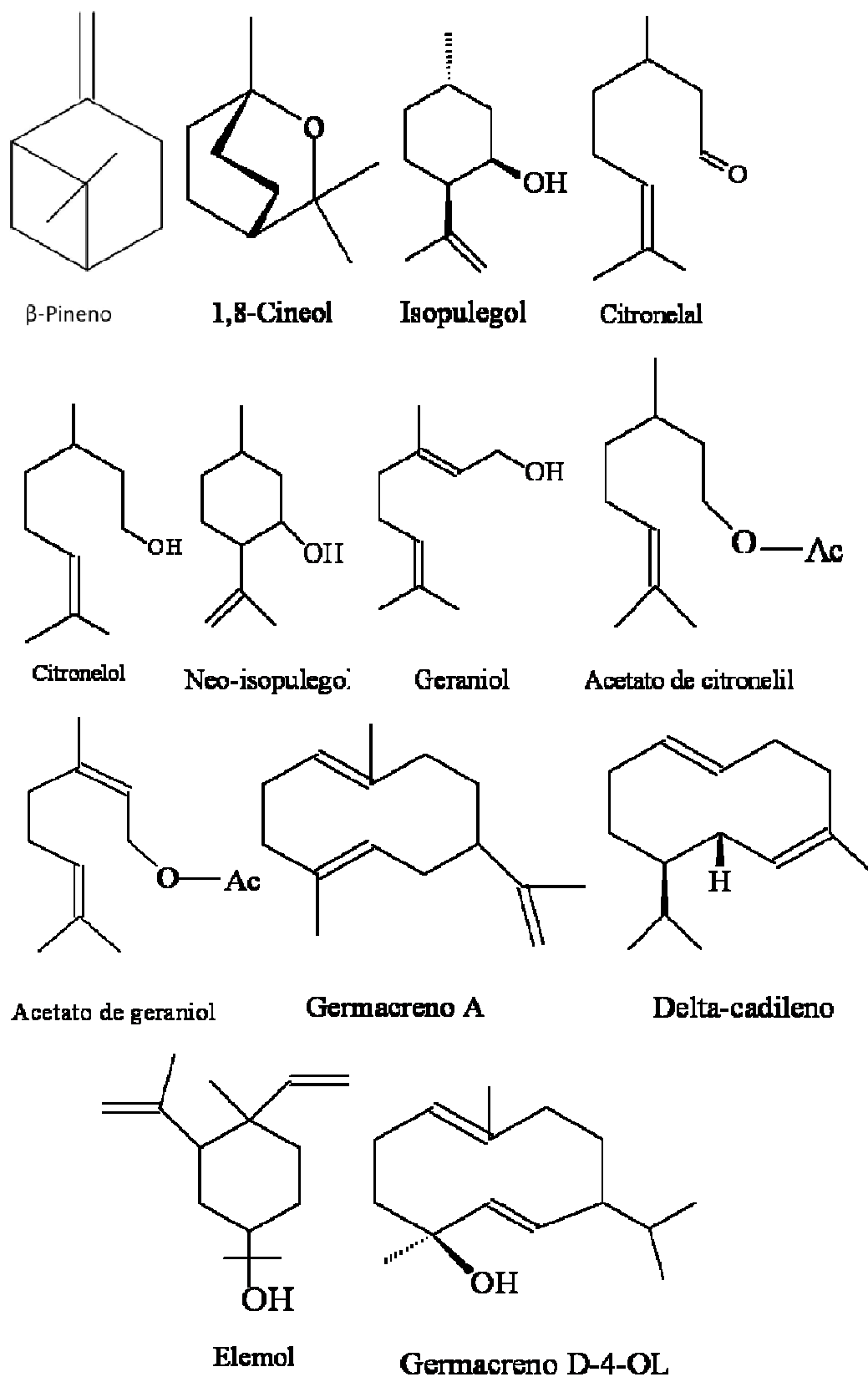


Figura 6. Estruturas de alguns terpenos e fenilpropanóides comumente encontrados em óleos essenciais de *E. citrodora* e *C. nardus*.

## 2.4 Efeitos de compostos secundários

Atualmente, estima-se que de 3.000 óleos voláteis conhecidos, 300 são comercialmente importantes na indústria farmacêutica, agrônômica, alimentícia, sanitária, cosmética e de perfumaria (BRISKIN, 2000), sendo que a sua aplicação na aromaterapia corresponde a menos de 2% do mercado total de óleos voláteis (BURT, 2004). O Cerrado é o mais antigo dos ambientes terrestres, com cerca de 35 milhões de anos, por isso já atingiu o seu clímax evolutivo e encontra-se em declínio, dessa forma não tem mais o mesmo potencial de recuperação de uma floresta. Originalmente, ocupava mais de 2 milhões de km<sup>2</sup>, correspondente a aproximadamente 25% do território brasileiro.(FELIPPE & SOUZA, 2006)

A diversidade de substâncias ativas em plantas medicinais tem motivado estudos na área farmacêutica, bem como o desenvolvimento de pesquisas envolvendo extratos e óleos essenciais, tendo em vista o controle de doenças em plantas, com resultados promissores. Existem relatos da atividade direta de extratos e óleos essenciais de plantas sobre fitopatógenos como insetos, fungos, bactérias, e efeito alelopáticos (WILSON et al., 1997; FIORI et al., 2000; MOTOYAMA et al., 2003; KAGALE et al., 2004; BALDO, 2005), ou indireta, ativando mecanismos de defesa das plantas aos patógenos (FRANZENER et al., 2003; MOREIRA, 2003; SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005).

Embora a maioria dos estudos tenha sido realizada com extratos ou óleos essenciais, outros métodos de extração ou produtos podem ser utilizados, como o hidrolato, sendo este o líquido resultante do processo de extração de óleo essencial por arraste a vapor, o qual apresenta geralmente compostos voláteis hidrossolúveis (LAVABRE, 1993) e possui grande quantidade de princípios ativos como ácidos, aldeídos e aminas. Também, hidrolatos obtidos de plantas aromáticas geralmente contêm de 0,05 a 0,20 g de óleo essencial por litro. Atualmente, os hidrolatos têm sido utilizados para preparação de xaropes e em cosmetologia (TESKE; TRENTINI, 1997).

São escassas as informações do seu emprego no controle de doenças em plantas. Um dos poucos trabalhos nesse sentido relata a inibição no desenvolvimento dos fungos fitopatogênicos *Botrytis alli* e *Sclerotium cepivorum* por hidrolatos de alho (*Allium sativum*) e cebola (*Allium cepivorum*) (LOZANO et al., 2000). Os óleos voláteis são misturas complexas de substâncias orgânicas voláteis, lipofílicas, odoríferas e líquidas, obtidas por arraste a vapor d'água ou expressão a frio do pericarpo de frutos cítricos. Possui sabor geralmente acre e picante, índice de refração a 20°C e de 1,4500 - 1,4670 e são instáveis e sujeitos à degradação

na presença de luz, calor, oxigênio atmosférico e umidade (TISSERAND & BALACS, 1995; SIMÕES & SPITZER, 2004). Por isso, recomenda-se que a análise da sua composição seja realizada imediatamente após a extração e que estes óleos sejam armazenados em congelador e ao abrigo da luz.

Os óleos voláteis são raramente encontrados em gimnospermas, com exceção das coníferas (SIMÕES & SPITZER, 2004), como em *Pinus densiflora* e *P. koraiensis* (HONG et al., 2004). Nas angiospermas, ocorrem em menor frequência em monocotiledôneas, podendo citar as famílias Poaceae e Zingiberaceae (SIMÕES & SPITZER, 2004), como em *Cymbopogon winterianus*, popularmente conhecida como citronela (DUARTE et al., 2007), e *Zingiber officinale*, o gengibre (SCHNITZLER et al., 2007), respectivamente. Dessa forma, os óleos voláteis são mais abundantes nas angiospermas dicotiledôneas, como nas famílias Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae e Rutaceae (SIMÕES & SPITZER, 2004).

Os óleos voláteis podem ser sintetizados em todos os órgãos das plantas, como folhas (eucalipto), ramos (alecrim), raízes (vetiver), rizomas (gengibre), flores (rosa), frutos (anis-strelado), sementes (noz-moscada), madeira (pau-rosa) e casca do caule (canela), e são armazenados em estruturas especializadas como células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae), bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae e Rutaceae), canais oleíferos (Apiaceae), células epidérmicas e tricomas glandulares (Lamiaceae) (SIMÕES & SPITZER, 2004; BAKKALI et al., 2008).

## **2.5 Métodos extração de óleos essenciais**

**2.5.1 Arraste de vapor** - empregando-se o aparelho de Clevenger, o óleo é arrastado pelo vapor d'água por ter tensão de vapor mais elevada, formando uma camada de óleo de densidade menor sobre o hidrolato que circula pelo sistema, sendo então separado deste. É o método preconizado pela Farmacopéia Brasileira para extração de óleos voláteis (SIMÕES & SPITZER, 2004). No entanto, as altas temperaturas e a própria água podem causar degradação ou modificações químicas dos constituintes dos óleos voláteis (PELLATI et al., 2005).



Figura 7. Aparelho de hidrodestilação tipo clevenge (arraste de vapor).

**2.5.2 Extração com solventes orgânicos apolares** - geralmente são usados diclorometano, éter ou éter de petróleo, no entanto esses solventes extraem compostos lipofílicos não voláteis, obtendo-se assim um óleo impuro, sem valor comercial (SIMÕES & SPITZER, 2004).

**2.5.3 Enfloração** - é o método utilizado para obtenção de óleo volátil de uso na perfumaria, obtido geralmente a partir de pétalas de flores que são depositadas sobre uma camada de gordura que depois de saturada é tratada com álcool, posteriormente destilado a baixas temperaturas, resultando em um óleo volátil puro e de alto valor comercial (SIMÕES & SPITZER, 2004).

**2.5.4 Fatores que afetam a extração** - entre os fatores que afetam a produção natural dos óleos voláteis e a sua composição nas plantas temos:

**Localização geográfica** - As diferentes características geográficas e edafoclimáticas interferem diretamente sobre o modo como as plantas adaptam-se e desenvolvem-se, influenciando assim na produção dos metabólitos secundários produzidos de acordo com a sua necessidade (HARTMANN, 2007), como observado por Schwob et al. (2004).

**Sazonalidade** - A variação climática própria das estações do ano pode influenciar na composição química dos óleos voláteis, como em *Ocimum basilicum* cujo teor de monoterpenos oxigenados é maior no inverno e de sesquiterpenos hidrocarbonetos é maior no verão (HUSSAIN et al., 2008).

**Fase fenológica** - A composição química dos óleos voláteis pode variar de acordo com a idade da planta e a fase fenológica em que se encontram, como observado em *Guarea macrophylla*, que produz níveis mais altos de sesquiterpenos hidrocarbonetos, considerados mais voláteis, nos meses correspondentes às fases de floração e frutificação, possivelmente para favorecer sua polinização e dispersão (LAGO et al., 2007)

**Biotipo** - A composição química dos óleos voláteis de plantas aromáticas da mesma espécie que apresentam biotipos com e sem tricomas glandulares pode variar significativamente, como em *Artemisia annua* em que os monoterpenos ocorrem predominantemente no biotipo glandular (TELLEZ et al., 1999).

**Quimiotipo** - A evolução das plantas em resposta às condições ambientais sob as quais viveram ao longo do tempo resultou em grande variabilidade genética, que promove diferenças químicas intraespecíficas nos óleos voláteis de plantas da mesma espécie, morfologicamente idênticas e até mesmo cultivadas nas mesmas condições ambientais (LAHLOU, 2004).

**Condições de cultivo** - A disponibilidade limitada de água pode restringir a biossíntese de terpenóides, como por exemplo, a seca severa reduz a emissão de compostos orgânicos voláteis (OWEN & PEÑUELAS, 2005)

**Interação com o meio ambiente** - A taxa de emissão de monoterpenos pode aumentar sob injúria e herbivoria (OWEN & PEÑUELAS, 2005)

**Defesa contra microrganismos fitopatogênicos** - Plantas aromáticas podem responder à invasão de fitopatógenos produzindo fitoalexinas de caráter lipofílico, que podem atuar em nível molecular tendo como alvo principal a membrana celular desses microrganismos (INOUE et al., 2004)

**Atração de polinizadores e dispersores de sementes** - Por serem sésseis, as plantas produzem compostos voláteis que atraem agentes polinizadores e dispersores, fato evidenciado por estudos que comprovam que terpenos são reconhecidos pelo aparelho olfativo dos insetos como em *Manduca sexta*, que apresenta células receptoras que respondem fortemente a certos monoterpenos e sesquiterpenos oxigenados como o geraniol, (E)-nerolidol e farnesol (GERSHENZON & DUDAREVA, 2007).

## 2.6 Utilizações agronômicas de óleos essenciais

Diferentes estudos reletam que os óleos essenciais possuem efeito inseticida, fungicida e herbicida e em diversas pragas, incluindo as de grãos armazenados, com efeito na mortalidade, repelência, deterrência na alimentação e oviposição e redução no crescimento (PROCÓPIO & VENDRAMIM, 2003; AKOB & EWETE, 2007, KABEH & JALINGO, 2007). O óleo essencial de cravo da Índia (*Eugenia caryophyllus* T.) tem como principal constituinte o eugenol. O aldeído cinâmico e o eugenol (Figura 14), quando isolados das folhas de *Cinnamomum osmophloeum*, mostraram repelência contra cupins (*Coptotermes formosanus*). Trabalhos de Simas et al. (2004) demonstraram que plantas ricas em fenilpropanóides, como o eugenol, o aldeído cinâmico e o safrol, contribuem para o controle de larvas do mosquito da dengue *Aedes aegypti* (L.).

Outro relato de atividade inseticida de dois monoterpenos halogenados (mertenseno e violaceno) isolados da alga vermelha *Plocamium cartilagineum* que são tóxicas para a traça do tomate *Tuta absoluta* e para pulgão-verde *Schizaphis graminum*, Argandoña et al. (2000) observaram que houve uma grande toxicidade do violaceno para os pulgões, causando 92 % de mortalidade em 48 horas nas concentrações de 100 e 250 ppm. Além disso, óleo de *Momordica charantia* tem ação anti-helmíntica, e após seu uso contra problemas gastrintestinais, os estudos sugerem que os glicosídeos triterpênicos, bem como mormodinas I e II sejam os principais agentes nematicidas (BELOIN et al., 2005).

### 2.6.1 Controle de insetos pragas de grãos armazenados

Mais de 600 espécies de coleópteros e 70 de lepidópteros entre os insetos, 355 espécies de ácaros e 150 espécies de fungos têm sido relatados os efeitos dos óleos essenciais sobre esses microorganismos associados a vários produtos armazenados (RAJENDRAN, 2002). As pragas de grãos armazenados possuem características biológicas que são adaptáveis a sobrevivência em condições de manipulação dos alimentos em condições de armazenamento.

Estas características incluem: (1) vasta gama de tolerância a diferentes condições ambientais, como temperatura e umidade relativa do ar, (2) maior gama de hábitos alimentares do que a maioria dos outros insetos; (3) atividade mais ou menos contínuo de reprodução abrangendo períodos de até três anos; (4) capacidade de sobreviver por longos períodos sem comida, e (5) capacidade para construir grandes populações (COX e COLLINS, 2002; REES, 2004). Nesta fase, o prejuízo torna significativo na qualidade e quantidade do produto armazenado (STOLL, 2000; REES, 2004).

O uso de extrato de plantas para repelir insetos pragas de grãos armazenados tem sido objeto de muita pesquisa. Fontes importantes de repelentes são os óleos essenciais extraídos de espécies de plantas aromáticas vulgarmente utilizadas na aromatização de alimentos e de perfumaria (COPPEN, 1995; ISMAN, 2000, 2006). Essas substâncias causam no inseto a não preferência dos produtos armazenados (DETHIER et al., 1960). Atualmente, repelentes sob a forma de óleos essenciais, em pó ou de destilados têm o potencial na exclusão de pragas de produtos armazenados em grão, e têm sido usadas para impedir a alimentação do inseto e oviposição.

Entre os extratos vegetais e óleos essenciais que possui destaque na proteção das culturas, destaca-se os que possuem monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos e outros compostos que mostram dissuasão ovicida, larvicida, repelente, antialimentar e efeitos tóxicos em uma grande variedade de insetos (ISMAN, 2000; BOEKE et al. 2004; LIU et al., 2006; 2006; MAO e HENDERSON, 2010). Em alguns países da asia, as sementes, raízes e folhas de gengibre, *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae), (ABUBAKAR et al., 2007), Oeste Africano pimenta preta, *Piper Thonn* (guineense e Schum) familia: Piperaceae (OYEDEJI et al., 2005) e pimenta do jacaré, *Melegueta Aframomum* (K. Schum) família: Zingiberaceae (AJAIYEBOBA e EKUNDAYO, 1999) são utilizados para repelir insetos (VERSPOHL et al., 2006; ABUBAKAR et al., 2007; ABO et al., 2008).

Óleos vegetais essenciais têm sido sugeridos como fonte alternativa de material no controle de insetos de grãos armazenados, porque eles constituem rica fonte de substâncias bioativas e são comumente usados como fragrâncias e agentes aromáticos para alimentos e bebidas (ISMAN, 1999).



### 2.6.2 Atividade Fúngitoxica

O controle químico de fitopatógenos utilizado intensivamente nas últimas décadas vem criando inúmeros problemas, tais como: resistência microbiana adquirida, contaminação ambiental (água, solo, produtor e consumidor) e elevação dos custos de produção. A procura por alternativas eficientes de controle, sem implicações adversas aliada ao crescimento da demanda de consumo por produtos alimentares seguros, vem se intensificando nos últimos anos, requerendo mais estudos sobre os óleos e extratos de plantas (NASCIMENTO et al., 2007). Os óleos essenciais vegetais são compostos basicamente por: terpenos e fenilpropanóides, os quais apresentam propriedades antifúngicas e microbianas comprovadas (ALMEIDA et al., 2006; ARRUDA et al., 2006; NUNES et al 2006).

A busca de substâncias de origem vegetal sob a forma de extratos ou óleos essenciais que desempenhem ação antimicrobiana tem tido uma busca cada vez maior, principalmente em função do aumento da resistência dos microrganismos aos medicamentos utilizados como rotina na prática médica conhecida. Atribui-se esta ação antimicrobiana aos vegetais em função destes serem ricos em taninos, flavanóides e polifenóis (REIS, 2006). Testes de sensibilidade “in vitro”, para fungos, não têm sido empregados corriqueiramente, eles são de grande valia na avaliação da resistência destes microrganismos, sendo úteis no controle da terapêutica antimicótica e para pesquisa de novas substâncias alternativas no tratamento, como por exemplo, a utilização de extratos vegetais (OLIVEIRA et al., 2006). O extrato de *Eucalyptus citriodora* apresentou uma inibição, in vitro, no crescimento de *Botrytis cinerea* (ZENI et al., 2004). Segundo DUARTE et al. (2004), o extrato alcóolico de *Eucalyptus globulus* mostrou-se eficiente “in vitro” contra este patógeno. Bastos e Albuquerque (2004) relataram a eficiência do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* na banana.

### 2.6.3 Atividade Herbítoxica

Dano potencial à saúde humana e ao meio ambiente por herbicidas é considerado como problema. Isso resultou em aumento do interesse em estratégias alternativas no desenvolvimento de compostos biodegradáveis (WYSE, 1994; BUHLER, 1996; JORDAN, 1996). Inibição do crescimento de plantas por outras plantas vizinha tem sido conhecida há muito tempo. A interação química entre as plantas, o que pode causar aumento ou inibição do crescimento, tem sido chamado de alelopatia (RICE, 1984). A maioria dos inibidores de germinação e crescimento é produzida por plantas perenes angiospermas identificadas por

Rice (1984) são compostos fenólicos ou derivados de ácido cinâmico. Outros autores também encontraram cumarinas, flavonóides, alcalóides, cianoglicosídeos, proteínas e aminoácidos entre outros compostos inibitórios (FRIEDMAN e WALKER, 1983; PUTNAM, 1985; WALLER, 1989), incluindo os terpenos voláteis que são os principais componentes dos óleos essenciais (FISCHER, 1986; MULLER, 1986; ELAKOVICH, 1988).

Controle de plantas daninhas em sistemas de produção orgânica pode ser uma alternativa de controle plantas daninha (TOURTE et al., 2004). Produtores orgânicos dependem de métodos de cultivo como, rotação de cultura, culturas de cobertura, gestão da água, cobertura morta e outras técnicas para controlar plantas daninhas (GASKELL et al., 2000). Óleos essenciais de origem vegetal podem ser usados, mas não deve ser o principal método de controle de plantas daninhas e deve ser usado com adjuvante de uma maneira que seja menos tóxico ao meio ambiente (CCOF, 2003). Os óleos essenciais são produtos naturais de plantas que degradam se rapidamente no ambiente, e são geralmente considerados como seguros (TWORKOSKI, 2002). Os óleos podem ser aplicados antes do plantio, ou em pulverizações dirigidas entre cultivo de plantas, ou mesmo como um tratamento pós-emergência no tratamento de algumas espécies vegetais (SMITH, 2004).

### 3. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M.J.; ANSUATEGUI, M.; BERMEJO, P. Active antifungal substances from natural sources. **ARKIVOC: journal and online education in chemistry**, v.2, p.116–145, 2007.

ABO, K.A.; FRED-JAIYESIMI, A.A. AND JAIYESIMI, A.E.A. Ethnobotanical studies of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in South Western Nigeria. **Journal of Ethnopharmacology**, v.115, p.67-71, 2008.

ABUBAKAR, M.S.; MUSA, A.M.; AHMED, A. AND HUSSAINI, I.M. The perception and practice of traditional medicine in the treatment of cancers and inflammations by the Hausa and Fulani tribes of Northern Nigeria. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p.625-629, 2007.

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gás chromatography/ mass spectrometry. **Allured Publishing Corporation. Carol Stream**, p.804, 2007.

ADEWOYIN, F.B.; ODAIBO, A.B. AND ADEWUNMI, C.O. Mosquito repellent activity of *Piper guineense* and *Xylopia aethiopica* fruits oils on *Aedes aegypti*. **Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v.3, p.79-83, 2006.

AHARONI, A.; JONGSMA, M.A.; KIM, T.-Y.; RI, M.-B.; GIRI, A.P.; VERSTAPPEN, F.W.A.; SCHWAB, W. & BOUWMEESTER, H.J. Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis in plants. **Phytochemistry reviews**, v.5, p.49-58, 2006.

AJAIYEGBA, E.O. AND EKUNDAYO, O. Essential oil constituents of *Aframomum melegueta* (Roscoe) K. Schum seeds (*alligator pepper*) from Nigeria. **Flavour and Fragrance Journal**, v.14: p.109-111, 1999.

AKOB, C.A. & EWETE, F.K. The efficacy of ashes of four locally used plant materials against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in Cameroon. **International Journal of Tropical Insect Science**. v.27, p.21-26, 2007.

ALMEIDA JR, G.A.; SILVA-FILHO R.N.; NUNES X.P.; DIAS C.S.; PEREIRA, F.O.; LIMA E.O. Antimicrobial activity of the essential oil of *Bowdichia virgilioides* Kunt. Ver **Revista Brasileira Farmacognosia** 16(Supl.), p.638-641, 2006.

AMEN-CHEN, C; PAKDEL, H.; ROY, C. Separation of phenols from *Eucalyptus* wood tar. **Biomass and Bioenergy**, v.13, p.25-37, 1997.

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

ARRUDA, T.A.; ANTUNES, R.M.P.; CATÃO, R.M.R.; LIMA, E.O.; SOUSA, D.P.; NUNES, X.P.; PEREIRA, M.S.V.; BARBOSA-FILHO, J.M.; CUNHA, E.V.L. Preliminary study of the antimicrobial activity of *Mentha x villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and its analogues. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.16, p.307-311, 2006.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D. & IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - a review. **Food and chemical toxicology**, v.46, p.446-475, 2008.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, n.29, v.5, p.555-557, 2004.

BALDO, M. Potencial do extrato bruto de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *Cymbopogon nardus* (citronela) no controle in vitro de *Cladosporium fulvum* do tomateiro. **Monografia** (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2005.

BAUER, K. & GARBE, D. Common fragrance and flavor material: preparation, properties and uses. **Weihein: VHC**, 1985.

BELOIN N.; GBEASSOR M.; AKPAGANA K.; HUDSON J.; SOUSSA K.; KOUMAGLO K. & ARNASON J.T. Ethnomedicinal uses of *Mormodica charantia* (*Curcubitaceae*) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. **Journal. Ethnopharmacology**, v.29, p.49-55, 2005.

BENKEBLIA N Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). **Technology Lebensm-Wiss**, v.37, p.263-268, 2004.

BERMUDEZ, J. A. Z. Indústria farmacêutica, estado e sociedade. São Paulo: **Hucitec**, p.204, 1995.

BOEKE, S.J.; BAUMGART, I.R.; VAN LOON, J.J.A.; VAN HUIS, A., DICKE, M. AND KOSSOU, D.K. Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Stored Products Research**, v.40, p.423-438, 2004.

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

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry and molecular biology of plants. Maryland: **American Society of Plant Physiologists**, p.1367, 2000.

BUHLER, D. D. Development of alternative weed management strategies. **Journal of stored products research**. v.9, p.501-505, 1996.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **Review**, 2004.

BRISKIN, D. P. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. **Plant Physiology**. Lancaster PA, v.124, p.507-514, 2000.

CASTRO, L.O.; RAMOS, R.L.D. Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais. **Boletim Técnico da Fundação Estadual de Pesquisa Agrária, n.11. Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária. Secretaria da Ciência e Tecnologia, Rio Grande do sul, p.28, 2003.**

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

CASTRO, H.G.; BARBOSA, L.C.A.; LEAL, T.C.A.B.; SOUZA, C.M.; NAZARENO, A.C. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, n.9, v.4, p.55-61, 2007.

CCOF. 2003. Manual three: CCOF **international standards and other standards**. Web page: <http://www.ccof.org/pdf/CCOFman3.pdf>.

CHAVES, J. L. Pimenta Longa Reativa o Safrol. **Química e Derivados**, p.40-41, 1994.

COPPEN, J.J.W. Flavours and Fragrances of plant origin. **Food and Agricultural Organisation (FAO) Report, Rome**, 1995.

COSTA, A.F. Farmacognosia. **4ºed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian**, v.1, 1986.

COX, P.D., COLLINS, L.E. Factors affecting the behaviour of beetle pests in stored grain, with particular reference to the development of lures. **Journal of stored products research**, v.38, p.95-115, 2002.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos Essenciais e Química Fina. **Química Nova**, v.16, n.3, p.224-228, 1993.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W. Óleos essenciais de plantas do nordeste. **Universidade Federal do Ceara** p.210, 1981.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M. & LEWIS, N.G. Natural products (secondary metabolites). In: B. Buchanam, W. Gruissem & R. Jones (eds.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. American Society of Plant Physiologists, p.1367, 2000.

DETHIER, V.B.; BROWNE, B.L. AND SMITH, C.N. The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. **Journal of Economic Entomology**, v.53, p.134-136, 1960.

DUARTE, J. A. S.; ZENI, T. L.; BIZI, R. M.; GRIGOLETTI JR., A. Efeito de extratos de *Eucalyptus globulus* sobre o desenvolvimento dos fungos *Botrytis cinerea* e *Cylindrocladium spathulatum*. In: **II Confies**. Curitiba, PR. 2004.

DUARTE, M.C.T; FIGUEIRA, G.M.; SARTORRATO, A.; REHDER, V.L.G.; DELARMELINA, C. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p.197-201, 2007.

ELAKOVICH, S. D. Terpenoids as models for new agrochemicals, in CUTLER, H. G. (ed.). Biologically Active Natural Products-Potential Use in Agriculture. **American Chemical Society**, p.250-261, 1988.

ESTANISLAU, A.A.; BARROS, F.A.S.; PEÑA, A.P.; SANTOS, S.C.; FERRI, P.H., PAULA, J.R. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, n.2, p.95-100, 2001.

FABROWSKI, F.J. *Eucalyptus smithii* R. T. BAKER (Myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial no sul do Brasil. 2002, p.225 **Tese** (Doutorado em Engenharia Florestal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

FELIPPE, M.F. & SOUZA, T.A.R. A biogeografia do Cerrado em concomitância com sua história econômica e suas perspectivas para o futuro. **Enciclopédia biosfera**, v.1, p.1-33, 2006.

FIELDS, P.G.; XIE, Y.S. AND HOU, X. Repellent effect of pea (*Pisum sativum*) fractions against stored-product insects. **Journal of Stored Products Research**, v.37, p.359-370, 2001.

FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; VIDA, J. B.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, v.148, p.483-487, 2000.

FISCHER, N. H. The function of mono and sesquiterpenes as plant germination and growth regulators, in PUTNAM, A. R. and TANG, C. S.(eds.). **The Science of Allelopathy. Wiley-Interscience**, p.203-218, 1986.

FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; SCHWANESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. **Acta Scientiarum**, v.25, p.503-507, 2003.

FRIEDMAN, J.; ORSHAN, G., and ZIGER-CFIR, Y. Suppression of annuals by *Artemisia herba-alba* in the Negev Desert of Israel. **Journal Ecology**, v.65, p.413–426, 1977.

GASKELL, M.; FOUCHE, B.; KOIKE, S.; LANINI, T.; MITCHELL, J. AND SMITH, R. Organic vegetable production in California-science and practice. **HortTechnology**, v.10, p.699-713, 2000.

GERSHENZON, J. & DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the natural world. **Nature chemical biology**, v.3, n.7, p.408-414, 2007.

GUENTHER, E. History, Origin in Plants, Production and Analysis. In: *The Essential Oils*, **4.ed. New York**, v.1, 1977.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v.68, p.2831-2846, 2007.

HEINRICH, M.; BARNES, J.; GIBBONS, S. & WILLIAMSON, E.M. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy, **1ed. London: Churchill Livingstone**, 2004.



HONG, E.J.; NA, K.J.; CHOI, I.G.; CHOI, K.C. & JEUNG, E.B. Antibacterial and antifungal effects of essential oils from coniferous trees. **Biological and pharmaceutical bulletin**, v.27, p.863-866, 2004.

HUSSAIN, A.I.; ANWAR, F.; SHERAZI, S.T.H. & PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food chemistry**, v.108, p.986-995, 2008.

INOUE, Y.; SGIRAISHI, A.; HADA, T.; HIROSE, K.; HAMASHIMA, H. & SHIMADA, J. The antibacterial effects of terpene alcohols on *Staphylococcus aureus* and their mode of action. **FEMS microbiology letters**, v.237, p.325-331, 2004.

ISMAN, M.B. Pesticides based on plant essential oils. **Pesticide Outlook**, p.68-72, 1999.

ISMAN, M.B. Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an increasingly regulated World. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45-66, 2006.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v.19, p.603-608, 2000.

JAYASEKARA, T.K.; STEVENSON, P.C.; HALL, D.R. and BELMAIN, S.R. Effects of volatile constituent from *Securidaca longepedunculata* on insect pests of stored grain. **Journal of Chemical Ecology**, n.31, v.2, p.303-312, 2005.

JORDAN, N. Weed prevention: Priority research for alternative weed management. **Journal of Production Agriculture**, v.9, p.485-490, 1996.

KABEH, J.D. & JALINGO M.G.D.S.S. Pesticidal effect of bitter leaf plant *Vernonia amygdalina* (Compositae) leaves and pirimiphos-methyl on larvae of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **International Journal of Agriculture and Biology**, p.452-454, 2007.

KAGALE, S.; MARIMUTHU, T.; THAYUMANAVAN, B.; NANDAKUMAR, R.; SAMIYAPPAN, R. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.65, p.91-100, 2004.

LAGO J.H.G., FÁVERO O.A., ROMOFF P. Microclimatic factors and phenology influences on the chemical compositions of the essential oils from *Pittosporum undulatum* Vent. leaves. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, v.17, p.1334-1338, 2006.

LAHLOU, M. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. **Journal Flavour and fragrance**, v.19, p.159-165, 2004.

LAVABRE, M. Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais. **Rio de Janeiro: Record**. 1993.  
LIU, C.H.; MISHRA, A.K. AND TAN, R.X. Repellent, insecticidal and phytotoxic activities of isoalantolactone from *Inula racemosa*. **Crop Protection**, v.25, p.508-511, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de. A. Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, p.544, 2002.

LOZANO, C.; CORDOBA, N.; AVILA-DE-MORENO, C.; VELOSA, M. Evaluacion del efecto de hidrolatos de ajo (*Allium sativum*) y cebolla junca (*Allium fistulosum*) en el desarrollo de los hongos fitopatogenos *Botrytis alli* y *Sclerotium cepivorum*. **Fitopatologia Colombiana**, v.24, p.29-32, 2000.

MAKKAR, H. P.S.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Plant Secondary Metabolites. **Institute for Animal Production in the Tropics and Subtropics, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany**, v.393, p.129, 2007.

MARTINS, R.M. Estudio "in vitro" de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea citronela de java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) no carrapato *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais- Brazilian Journal of Medicinal Plants**, v. 8, n.2, p.71-78, 2006.

MAO, L.; HENDERSON G. Evaluation of potential luse of nootkatone against maize weevil (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) and riceweevil [*S. oryzae* (L.)] (Coleoptera:Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.46, p.129-132, 2010.

MONTAGU, K.D.; KEARNEY, D.E.; SMITH, R.G.B. The biology and silviculture of pruning planted eucalypts for clear wood production: a review. **Forest Ecology and Management**, v.179, p.1-13, 2003.

MOREIRA, C. G. A. Caracterização parcial de frações eliciadoras presentes em extratos de *Cymbopogon nardus*. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 2003.

MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; FIORITUTIDA, A. C. G.; SCAPIM, C. A. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. manihotis. **Acta Scientiarum**, v.25, p.509-512, 2003.

MULLER, W. H. Allelochemical mechanisms in the inhibition of herbs by chaparral shrubs, in A. R. Putnam and C. S. Tang (eds.). **The Science of Allelopathy**. Wiley-Interscience, New York, p.189-199, 1986.

NASCIMENTO, P.F.C.; NASCIMENTO, A.C.; RODRIGUES, C.S.; ANTONIOLLI, AR.; SANTOS, P.O.; JÚNIOR A. M. B.; TRINDADE, R.C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista brasileira Farmacognosia**, v.17, p.1, 2007.

NUNES, X.P.; MAIA, G.L.A.; ALMEIDA, JR.G.S.; PEREIRA, F.O.; LIMA, E.O.; Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.16, p.642-644, 2006.

OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.16, p.77-82, 2006.

OLIVEIRA, R. B.; GODOY, S. A. P.; COSTA, F. B. Plantas Tóxicas. **Conhecimento e Prevenção de Acidentes**. Editora Holos, 2003.

OYEDEJI, O.A.; ADENIJI, B.A.; AJAYI, O. AND KONIG, W.A. Essential oil composition of *Piper guineense* and its antimicrobial activity: Another chemotype from Nigeria. **Phytotherapy Research**, v.19, p 362-364, 2005.

OWEN, S.M. & PEÑUELAS, J. Opportunistic emissions of volatile isoprenoids. **Trends in plant science**, v.10, n.9, p.420-426, 2005.

PELLATI, F.; BENVENUTI, S.; MELEGARI, M. Enantioselective LC analysis of synephrine in natural products on a protein-based chiral stationary phase. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.37, p.839-849, 2005.

POLITEO, O.; JUKI, M. & MILO, M. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants. **Croatica chemical acta**, v.4, n.79, p.545-552, 2006.

PROCÓPIO, S. O.; VENDRAMIM, J. D.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; SANTOS, J. B. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.6, p.1231-1236, 2003.

PUNGITORE, C.R.; GARCIA, M.; GIANELLO, J.C.; SOSA, M.E. AND TONN, C.E. Insecticidal and antifeedant effects of *Junellia aspera* (Verbernaceae) triterpenes and derivatives on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.41, p.433-443, 2003.

PUTNAM, A. R. Weed allelopathy, in DUKE, S. O. (ed.). **Weed Physiology, Vol. 1**. CRC Press, Boca Raton, Florida, p.131-150, 1985.

RAJENDRAN, S. AND GUNASEKARAN, N. The response of phosphine-resistant lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* and rice weevil *Sitophilus oryzae* in mixed-age cultures to varying concentrations of phosphine. **Pesticide Management Science**, v.58, p.277-281, 2002.

REES, D. Insects of stored products. **Australian Commonwealth Scientific and Research Organization Publishing, Collingwood, Australia**, p.181, 2004.

REHDER, V.L.G.; MACHADO, A.L.M.; DELARMELINA, C.; SARTORATTO, A.; FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum applii* e *Origanum vulgare*. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.6, p.67-71, 2004.

REIS, M. O. R. Dos. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidralcólico de folhas da *Persea gratissima* Gaertn - Abacateiro (Lauraceae), **Dissertação Universidade de Franca**, p.76, 2006.

RICE, E. L. Allelopathy, **2nd ed. Academic Press, Orlando, Florida**, 1984.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 2001.

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**, 2004.

SCHNITZLER, P.; KOCH, C. & REICHLING, J. Susceptibility of drug-resistant clinical HSV-1 strains to essential oils of Ginger, Thyme, Hyssop and Sandalwood. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v.51, p.1859-1862, 2007.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L S.; DI PIERO, R. M. ; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ**, c.5, p.125-138, 2005.

SCHWOB, I.; BESSIERE, J.-M.; MASOTTI, V. & VIANO, J. 2004. Changes in essential oil composition in Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. **Biochemical systematics and ecology**, v.32, p.735-745, 2004.

SIMAS, N. K. Produtos Naturais para o Controle da Transmissão da Dengue - Atividade Larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de Fenilpropanóides. **Química Nova**, v.27, n.1, p.46-49, 2004.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES C. M. O et al. Farmacognosia da planta ao medicamento, 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, p.468-495, 2004.

SIMÕES, C.M.O & SPITZER, V. Óleos essenciais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. **Farmacognosia. Da planta ao medicamento.**, p.387-415, 1999.

SMITH, R. Post emergence organic weed control in onions and broccoli. **Crop Notes**. November–December, p.10-12, 2004.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v.11, p.16-21, 1999.

STOLL, G. Natural crop protection in the tropics: letting information come to life. **margraf verlag, weikersheim**, 2000.

SUBRAMANYAM, Bh. and HAGSTRUM, D.W. Botanicals. In: SUBRAMANYAM, Bh and HAGSTRUM, D.W. (eds.), Alternatives to Pesticides in Stored Product IPM. Boston, **Kluwer Academic Publishers**, p.303-320, 2000.

SRIVASTAVA, A.K.; SRIVASTAVA, S.K. & SYAMSUNDAR, K.V. Bud and leaf essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from. **Flavour and fragrance journal**, n.20, v.1, p.51-53, 2004.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. Fisiologia vegetal, 3º ed. **Porto Alegre**, p.719, 2004.

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

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. Herbariu: compêndio de fitoterapia. **Curitiba: Herbarium**, 1997.

TELLEZ, M.R.; CANEL, C.; RIMANDO, A.M. & DUKE, S.O. Differential accumulation of isoprenoids in glanded and glandless *Artemisia*. **annual Phytochemistry**, v.52, p.1035-1040, 1999.

TISSERAND, R.; BALACS, T. Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals. **New York: Churchill Livingstone**, v.7, n.15, p.146-147, 1995.

TOURTE, L.; SMITH, R. F.; KLONSKY, K. M. AND DEMOURA, R. L. Sample costs to produce organic leaf lettuce. **Monterey and Santa Cruz Counties. University of California Cooperative Extension**, 2004. Web page: <http://www.agecon.ucdavis.edu>.

TRONGTOKIT, Y.; RONGSRIYAM, Y.; KOMALAMISRA, N.; APIWATHNASORN, C. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytotherapy Research**, v.19, n.4, p.303-309, 2005.

TWORKOSKI, T. Herbicide effects of essential oils. **Science Weed**, v.50, p.425-431, 2002.

VERSPOHL, E.J.; ABDEL-AZIZ, H.; WINDECK, T. AND PLOCH, M. Mode of action of gingerols and shogaols on 5-HT<sub>3</sub> receptors: Binding studies, cation uptake by the receptor channel and contraction of isolated guinea-pig ileum. **European Journal of Pharmacology**, v.530, p.136-143, 2006.

VERPOORTE, R.. Secondary metabolism. In: VERPOORTE, R. & ALFERMANN, A.W. (eds.). **Metabolic engineering of plant secondary metabolism, 1ed.** Netherlands: **Kluwer Academic Publishers**, p.1-29, 2000.

VICKERY, M.L.; VICKERY, B. Secondary plant metabolism. **London: Mc Millan**, 1981.

WALLER, G. R. Allelochemical action of some natural products, *in* C. H. Chou and G. R. Waller (eds.). **Phytochemical Ecology: Allelochemicals, Mycotoxins and Insect Pheromones and Allomones. Institute of Botany, Academia Sinica Monograph Series No. 9, Taipei, Taiwan**, p.129-154, 1989.

WILSON, C. L.; SOLAR, J. M.; EL GHAOUTH, A.; WISNIEWSKI, M. E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, v.81, p.204-210, 1997.

WONG, K.K.Y.; SIGNAL, F.A.; CAMPION, S.H.; MOTION, R.L. Citronela as an insect repellent in food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4633-4636, 2005.

WYSE, D. L. New technologies and approaches for weed management in sustainable agriculture systems. **Weed Technology**, v.8, p.403-407, 1994.

ZAMBONI, S. Óleos Essenciais. **Revista Brasileira de Química**. São Paulo: XCV, v.575, n.11, p.106-9, 1983.

ZENI, T. L.; GRIGOLETTI JR., A.; AUER, C. G.; MAGALHÃES, W. L. E.; DUARTE, J. A. S.; BIZI, R. M. Uso de extrato aquoso e óleo de eucaliptos no controle de fungos fitopatogênicos *in vitro*. In: **III Evento de iniciação científica da Embrapa Florestas**. Colombo, PR. 2004.



## **CAPÍTULO I**

**AVALIAÇÃO DE BIOATIVIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus Citriodora* E *Cymbopogon Nardus* EM *Sitophilus Zeamais* MOTS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito toxicidade dos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus* e do composto majoritário citronelal em *S. zeamais*. Determinado a concentração letal, tempo letal, repelência, emergência dos insetos adultos de *S. zeamais* e a redução da massa pelo inseto. As curvas concentração resposta foram estabelecidas mediante bioensaios com concentrações crescentes dos óleos de *C. nardus* e *E. citriodora* e do composto majoritário citronelal. Sendo observado da mesma forma para o tempo de resposta em função da exposição de *S. zeamais* e com as respectivas concentrações dos óleos. As curvas do tempo repostas por meio de estimativas dos tempos de exposição letais em 50 e 95% dos insetos tempo letal (TL<sub>50</sub> e TL<sub>95</sub>) verificaram que o menor período de exposição a controlar 50% dos insetos submetidos foi de 1,38 horas com o composto citronelal. Enquanto, a concentração letal CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> o composto citronelal e o óleo de *E. citriodora* tiveram as maiores mortalidades, assim como, os maiores números de insetos repelidos de repelência com mais de 80% dependendo da concentração do óleo essencial, contudo para o bioensaio de emergência dos adultos e na perda de massa os óleos de *E. citriodora* e *C. nardus* foram significativos. No entanto, o composto mostrou baixa persistência. De acordo com os resultados, o óleo de *E. citriodora* tem potencial de repelência, toxicidade na emergência dos adultos esse óleos podem ser considerado com potencial na utilização desse produtos como bioinseticidas promissores, junto com o composto citronelal, pois sua toxicidade também foi superior aos óleos.

**Palavras chaves:** gorgulho; citronela; eucalipto.

## ABSTRACT

### **BIOACTIVITY EVALUATION OF THE ESSENTIAL OILS OF *Eucalyptus citriodora* AND *Cymbopogon nardus* ON *Sitophilus Zeamais* MOTHS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

This work's objective is to evaluate the affects of essential oils of *E. citriodora* and *C. nardus* and their citronelal's higher composite on *S. zeamais*. There was verification of expected concentration, expected time, repellence, grain's weight reduction, and the emerging adult insects *S. zeamais* . The expected curves were established with growing concentrations on bioexperiments of the oils of *C. nardus* and *E. citriodora* and citronellal's higher composite. It was the same format for expected function time exposure with the respective oils' concentrations. The obtained curves by lethal time exposure estimates for both 50 and 95% for dead insects (LT<sub>50</sub> and LT<sub>95</sub>) For citrolelal composite minor exposure period to control 50% of submitted insects was 1.38 hours. The highest mortality with minor lethal concentrarion of CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> was by Citronellal's composite and *E. Citriodora's* oil, as it was the highest insect repellence was above 80%; however, *E. citriodora* and *C. Nardus* oils had signigicant affect with weight loss and adult emerging insects in the bioexperiments. However, the citronelal composite showed low persistence. According to the results among the examined oils, *E. Citriodora's* oil has repellence potential; in emerging adult insects' toxicity, this oil can be considered for use as a promising bioinsecticide products with Citronelal's composite; for their toxicity was the highest.

Keywords: maize weevil; cironella and eucalyptus.

## 1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) é um produto agrícola amplamente distribuído no Brasil é utilizada na alimentação humana em processos industriais. Entre os diversos fatores que afetam diretamente a produção está o ataque de insetos-pragas durante a armazenagem (BIAZUS et al., 2006; FERREIRA et al., 2007) (IBGE, 2008). Dentre os insetos de maior importância na armazenagem do milho, destaca o gorgulho, *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae), sendo esta uma praga primária, de infestação cruzada, sua postura é efetuada no interior dos grãos, onde desenvolvem as larvas e pupas até a emergência dos insetos adultos (LORINI, 2003; RIBEIRO et al., 2003; BENHALIMA et al., 2004).

O controle do *S. zeamais* é realizado por meio de inseticidas sintéticos e fumigantes, que, apesar de eficientes e econômicos, podem provocar efeitos indesejáveis, como intoxicações aos aplicadores, presença de resíduos nos grãos, aumento dos custos no armazenamento e a possibilidade de desenvolvimento de resistências dos insetos (TAPONDJOU et al., 2002; RIBEIRO et al., 2003; OBENG-OFORI & AMITEYE, 2005). Devido à importância econômica de *S. zeamais* há necessidade de alternativas mais seguras sob o ponto de vista ecológico, além de compatíveis com o manejo integrado de pragas com isso, é justificável a realização de estudos de novos métodos de controle. (LORINI, 1998)

Entre os métodos alternativos destacam os compostos bioativos de plantas principalmente, devido a sua toxicidade, diferenças na composição entre os compostos, que podem ser altamente tóxicos ao inseto praga e menor poder residual nos alimentos armazenados (SHAAYA et al., 1997; HUANG et al., 2000; DEMISSIE et al., 2008). Com aplicação direta sobre a massa de grãos, tais como: pós, extratos aquosos ou orgânicos, óleos essenciais e óleos emulsionáveis, apresentando toxicidade, por contato, ingestão e fumigação (KARR & COATS, 1988; RAJENDRAN & SRIRANJIN, 2008). Além disso, possui atividade de repelência, deterrência alimentar, oviposição e no desenvolvimento do inseto-praga (HUANG et al., 1999; MARTINEZ & VAN EMDEN, 2001).

Entre as plantas inseticidas destacam *E. citriodora* e *C. nardus*. Os óleos essenciais destas plantas têm efeito comprovado em diferentes espécies de insetos. As composições dos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus* estão os monoterpenos (citronelal, linalol, mentol,  $\alpha$  e  $\beta$ - pinenos, mentona, carvona e limoneno), os sesquiterpenos (farnesol, nerolidol), os fenilpropanóides (safrol, eugenol) e muitos outros compostos, dependente dos fatores abióticos e bióticos e genéticos da planta (PANIZZI e PARA, 1991; SIMÕES e SPTIZER, 2004).

A atividade de fumigação de óleos essenciais em *S. zeamais* e coleópteros de grãos armazenados é atribuída à presença de substâncias voláteis em suas folhas, como citronelal, eugenol, geraniol e limoneno, entre outras, denominadas de um modo geral como monoterpenos (SHASANY et al., 2000). Esta ação deve-se ao princípio ativo citronelal, de comprovada ação inseticida (CHAGAS et al., 2002). Estes compostos são tipicamente lipofílicos, tendo alto potencial na interferências tóxicas em processos bioquímicos básicos, com consequências fisiológicas e comportamentais em insetos (PRATES e SANTOS, 2002). Com excelentes potenciais como agentes inseticidas e repelentes naturais no controle de *S. zeamais*.

Considerando à importância econômica de *S. zeamais* e a necessidade de novas formas de controle deste inseto praga, objetivou-se com este trabalho avaliar efeito inseticida, de repelência e persistência dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* obtido do estado do Tocantins e do composto majoritário Citronelal para *S. zeamais*, determinando a concentração letal  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$  e tempo letal  $TL_{50}$  e  $TL_{95}$ , além do efeito de repelência e poder residual.

## **2. MATÉRIAS E METODOS**

### **2.1 Local**

O presente trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal do Tocantins (UFT) Campus de Gurupi no Laboratório de Manejo integrado de pragas.

### **2.2 Criação de *S. zeamais***

A população de *S. zeamais* usada neste trabalho foi obtida em armazéns de Gurupi. Os insetos foram criados em sementes de milho BRS 3060 mantidas no laboratório de Manejo integrado de pragas, sob a temperatura de  $28,7 \pm 1,12$  °C, umidade relativa de  $61,3 \pm 2,6\%$  e fotofase de 12 horas, acondicionados em recipientes de vidro, fechados com tampa plástica perfurada e revestida internamente com tecido fino para permitir as trocas gasosas. O confinamento dos insetos foi realizado durante 15 dias para efetuarem a postura. Em seguida foram retirados e os recipientes estocados até a emergência da geração F<sub>1</sub>. Efetuou-se este procedimento por sucessivas gerações, de modo a assegurar a quantidade de adultos necessários à execução dos experimentos.

### **2.3 Obtenção dos óleos essenciais**

As plantas foram colhidas no Campus Universitário de Gurupi na horta de plantas medicinais onde as folhas de *E. citriodora* e *C. nardus* foram picadas e pesados 300 g mais 500 ml de água por extração foram colocadas no balão de 1000 ml. Colocou-se essa amostra no hidroddestilador modelo Clevenger (arraste de vapor) e deixou por um período de 2,5 horas. Coletou-se o hidrolato, que em seguida foi centrifugado a 1000 RPM por 5 minutos. A fase onde óleo essencial, foi retirado com o auxílio de uma micropipeta e posteriormente foi acondicionado em frasco de vidro âmbar envolto com papel alumínio. Após colocou-se sob refrigeração a 4°C. Para evitar sua volatilização e foto-oxidação devido aos compostos terpenoides metodologia segundo Castro (2006). A obtenção do composto citrionelal foi junto à empresa Sigma-Aldrich com grau de pureza de 85%, em frasco de 100 mL.

### **2.4 Identificação por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas (CG/EM)**

A análise cromatográfica gasosa (CG) dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* foram divididas em tres amostra para cada óleo, utilizando-se cromatografo

Hewlett Packard 5890 SERIES, equipado com detector de ionização (FID) e J & W Scientific DB-5 com coluna de capilaridade com sílica (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ). Programou-se a temperatura da coluna para 40°C por 2 min, variando de 220 °C  $\text{min}^{-1}$ , aumentando para 280 °C à 20 °C  $\text{min}^{-1}$  para integração. As temperaturas do injetor e detector foram de 250 °C e 280 °C, respectivamente. Utilizou-se o hidrogênio como carreador gasoso, com fluxo de 1,5 mL  $\text{min}^{-1}$ , (1:10). Uma solução de 1,5  $\mu\text{L}$  de aproximadamente 10 mg do óleo e etil-acetato foi ministrada. O índice de retenção foi obtido, aplicando-se uma amostra de óleo com mistura de hidrocarbonetos lineares  $\text{C}_{11}\text{-C}_{24}$  (índice de retenção variando de 900 a 1099 obtido por extrapolação). Efetuou-se a análise por CG/EM dos óleos utilizando aparelho Shimadzu QP5050 quadrupole com a mesma coluna e temperaturas utilizadas no experimento com GC. Usou-se o hélio como carreador gasoso e fluxo de 1,5 mL  $\text{min}^{-1}$  (1:50). Aplicou-se 1 $\mu\text{L}$  de 1/100 de solução diluída em acetato de etila. O espectro de massa foi obtido à 70 eV e a velocidade de leitura foi 0,5 scan  $\text{s}^{-1}$  de 40 à 650 m/z. A identificação dos compostos majoritários foi realizada com base na comparação dos índices de retenção (VANDENDOLL & KRATZ, 1963) bem como por comparação computadorizada do espectro de massa obtido com aqueles contidos na biblioteca de espectro de massas do NIST do banco de dados GC/EM (ADAMS, 1995). Os compostos presentes nos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus* constam na Tabela 1.

Tabela 1. Compostos majoritários identificados de óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus* de plantas do estado do Tocantins respectivamente em %.

Compostos	Composição dos óleos essenciais em %	
	<i>C. nardus</i>	<i>E. citriodora</i>
β-pineno	-----	2,83
1,8-Cineol	-----	3,44
Isopulegol	1,40	15,54
Citronelal	36,53	61,78
Citronelol	13,10	7,90
Cariofileno	-----	2,13
Geraniol	25,56	-----
Acetato de citronelil	2,22	-----
Acetato de geranil	1,51	-----
Germacreno-D	0,69	-----
Delta cadileno	1,09	-----
Elemol	8,24	-----
Germecreno-D-4-ol	1,64	-----
<b>Total</b>	<b>91,98</b>	<b>93,62</b>

## 2.5. Concentração letal

Após os testes de ajuste metodológico e “screening” foram conduzidos os bioensaios de concentração letal onde se utilizou no cálculo da CL<sub>50</sub> adição dos óleos essenciais *C. nardus*, *E. citriodora* composto majoritário citronelal (0,018, 0,037, 0,055, 0,074, 0,092, 0,111 e 0,129 μL/cm<sup>2</sup>, respectivamente) com três repetições. Estas concentrações foram aplicadas em frascos com acetona mais óleos nas respectivas concentrações e submetidas à rotação até volatilização da acetona e a impregnação uniforme dos óleos essenciais em toda a área interna (27 cm<sup>2</sup>) e volume de (20 ml). Em seguida, foram confinados em cada frasco, 20 indivíduos adultos não sexados, e submetidos a 24 h de exposição aos óleos essenciais, ao fim da qual foi observada a mortalidade. Os resultados de mortalidade obtidos da concentração-resposta foram submetidos à análise de próbit, segundo Finney (1971), por intermédio do programa Pólo Plus, gerando, assim, as curvas de concentração letal obtendo CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> concentração letal, onde foi estimada a razão de resistência (RR<sub>50</sub>). Todos os bioensaios foram realizados em câmaras de incubação com fotofase de 10 horas de escuros e 14 horas de luz mantidos a uma temperatura de 25 °C.



## 2.6. Bioensaios Tempo letal

Os bioensaios de tempo de letal dos óleos essenciais sobre a mortalidade dos insetos foram realizados com aplicação direta dos óleos em 50 gramas de milho colocados em potes de 200 ml com os 50 insetos. A mortalidade dos insetos foi avaliada de acordo com o tempo de exposição (24, 48, 96 e 120 horas), estipulados para cada óleo, sendo para *C. nardus* e *E. citriodora* (3,0, 4,0, 5,0 e 6,0 µL/g, respectivamente) e citronelal (1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 µL/g, respectivamente), nos tempos de exposição (1, 6, 12, 24, 36 e 48 horas). Todos os bioensaios foram realizados em condições ótimas de desenvolvimento. Depois de cada período submetido, contou-se o número de adultos sobreviventes. Os resultados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit, segundo Finney (1971), por intermédio do programa Pólo Plus, gerando, assim, as curvas de tempo letal (TL<sub>50</sub> e TL<sub>95</sub>). Esse procedimento visa à identificação das condições ideais de controle da população dos insetos com a utilização de óleos essenciais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão.

## 2.7. Bioensaios de repelência

Neste experimento foi avaliada a repelência dos óleos essenciais a *S. zeamais* em quatro doses dos óleos essenciais *C. nardus* e *E. citriodora* (3,0, 4,0, 5,0 e 6,0 µL/g) e do composto majoritário (1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 µL/g). Na realização do Teste de Repelência foi construída uma arena constituída seis potes de volume 200 ml ou área 227 cm<sup>2</sup> interligados por tubos de silicone a um pote central onde foi liberado os insetos. O procedimento experimental utilizou de 50 gramas de milho pulverizadas com as respectivas doses dos óleos nos potes periféricos, e posteriormente foram liberados 50 insetos adultos não sexados no recipiente central com chance de escola entre grãos não tratados e tratados com óleos essenciais. Após o período de 24 horas, foram determinados os insetos emigrantes aos respectivos recipientes com óleos. O percentual médio de repelência foi calculado, segundo a fórmula:  $PR = [(NC - NT) / (NC + NT) \times 100]$ , sendo PR= percentual médio de repelência, NC= média de insetos na testemunha e NT= média de insetos no tratamento (OBENG-OFORI, 1995). Análise dos dados foi utilizados o programa SIGMAPLOT 11 e SAEG no teste de Tukey 5% probabilidade.

## 2.8. Bioensaio de perda de massa

As concentrações utilizadas de *C. nardus* e *E. citriodora* (3,0, 4,0, 5,0 e 6,0  $\mu\text{L/g}$ ) e o composto majoritário citronelal (1,5, 2,0, 2,5 e 3,0  $\mu\text{L/g}$ ), todas essas concentrações utilizadas foram em função da  $CL_{50}$  (concentração letal) de cada óleo essencial e do composto. O procedimento experimental consistiu de concentrações dos óleos essenciais, com delineamento de dois óleos essenciais mais o composto majoritário citronelal o tratamento de quatro concentrações mais testemunha por quatro repetição. O efeito dos óleos na emergência de *S. zeamais* consistiu primeiramente de colocar 50 insetos adultos não sexados em 50 gramas milho variedade BRS 3060 em recipientes de aproximadamente de 200 ml e deixado para ovoposição por um período de sete dias. Após este período foram removidos os insetos da massa do grão, em seguida, foram pulverizados grãos com os óleos e o composto majoritário nas respectivas concentrações. A avaliação dos bioensaios foi realizada em intervalo de tempo 21, 42 e 63 dias após a aplicação dos respectivos óleos essenciais. Os dados de emergência dos insetos foram quantificados, os resultados foram submetidos análise de ANOVA e a diferença entre tratamentos verificou pelo teste de média Tukey a 5% de probabilidade.

Na determinação do efeito dos óleos essenciais no consumo direto dos insetos sobre grãos armazenados utilizando os óleos de *E. citriodora* e *C. nardus* nas concentrações 3,0  $\mu\text{L/g}$  e 6  $\mu\text{L/g}$ . Foi quantificado o consumo da massa de grãos pelo inseto *S. zeamais* sobre o efeito dos óleos utilizou se 50 insetos adultos não sexado em 50 g de milho variedade BRS 3060. A avaliação da massa de grão foi realizada após o período de 35 e 45 dias após a infestação. Os dados obtidos da redução da massa de milho e submetido à análise de variancia e a diferença entre tratamentos foi detectada pelo teste de média Tukey a 5 % de probabilidade utilizando o programa estatístico SAEG e Sigma plot para plotar os gráficos.

### 3. RESULTADOS

A tabela 1 mostra a composição química dos óleos voláteis de *C. nardus* e *E. citriodora* da cidade de Gurupi. Os óleos voláteis de eucalipto e citronela apresentaram dez constituintes. Entre os compostos encontrados no óleo de *E. citriodora* destaca o citronelal com 61,78 %, seguido de isopolegol com 11,89 %. Enquanto no óleo de *C. nardus* teve como constituintes predominantes o composto citronelal 36,53 %, geraniol com 25,56 % e citronelol 13 % houve predominância dos monoterpenos.

Os  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$  nas concentrações dos óleos essenciais para *S. zeamais* são apresentados na Tabela 2. O  $CL_{50}$  nas concentrações de 0,018, 0,037, 0,055, 0,074, 0,092, 0,111 e 0,129  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ , para o óleo de *C. nardus* foi 0,074  $\text{cm}^2$ ; para o óleo de *E. citriodora* na concentração 0,018, 0,037, 0,055, 0,074, 0,092, 0,111 e 0,129  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ , foi de 0,082  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ; e  $CL_{50}$  composto majoritário citronelal para as concentrações 0,018, 0,037, 0,055, 0,074, 0,092, 0,111 e 0,129  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ , foi de 0,064  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ . Nas  $CL_{95}$ , esta variação foi de 0,118  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  para óleos de *C. nardus*.; de 0,135  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  para óleo de *E. citriodora*; de 0,108  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  para composto majoritário citronelal.

De acordo com as análises de regressão linear ( $Y=\beta_0+\beta_1*x$ ). As  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$  reduziram significativamente com a concentração dos óleos essenciais utilizados e do composto majoritário citronelal (Tabela 3). Observa-se na Tabela 2 que esta redução foi mais expressiva no composto majoritário citronelal, nas quais os  $CL_{50}$  da concentração de 0,064  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  reduziram em 41 e 46 % em relação aos óleos de *C. nardus* e *E. citriodora*. Perspectivamente ressalta-se que na concentração do composto majoritário os intervalos de confiança (IC) dos  $CL_{50}$  para *S. zeamais* não se sobrepuseram aos intervalos dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora*, ao contrário do que foi observado para os óleos de *E. citriodora* e *C. nardus*; o composto majoritário foi mais tóxico aos insetos adultos de *S. zeamais*.

Tabela 2. Concentração letal CL<sub>50</sub> necessário para controlar 50% e 95% da população sobre o efeito dos óleos essenciais e do composto majoritário citronelal

Óleos essenciais	Inclinação ± (EPM)	CL <sub>50</sub> (µL/cm <sup>2</sup> )	IC (CL <sub>50</sub> )	CL <sub>95</sub>	IC (CL <sub>95</sub> )	X <sup>2</sup>	P
<i>E. citriodora</i>	38,070±5,120	0,074**	0,068-0,081	0,118**	0,108-0,132	4,374	0,005
<i>C. nardus</i>	30,964±4,379	0,082**	0,075-0,090	0,135**	0,123-0,154	1,608	0,001
Citronelal	38,014±5,288	0,064**	0,059-0,070	0,108**	0,098-0,122	2,565	0,055

EPM = Erro padrão da media; CL = Concentração letal (µL/cm<sup>2</sup>); IC = Intervalo de Confiança a 95% de probabilidade; X<sup>2</sup> = Qui-quadrado; P = Probabilidade

Tabela 3. Estimativa dos coeficientes da equação  $Y = \beta_0 + \beta_1 * x$  para prever a concentração letal para controlar 50 e 95% da população sobre o efeito dos diferentes óleos essenciais *E. citriodora* e *C. nardus* e o composto majoritário citronelal na mortalidade de *S. zeamais*

Óleos essenciais	Parâmetros estimados					
	$\beta_0$ (EPM)	$\beta_1$ (EPM)	GL <sub>erro</sub>	F <sub>calc</sub>	P	r <sup>2</sup>
<i>E. citriodora</i>	-3,53±1,98	168,19±25,72**	2	42,75	0,0006	0,93
<i>C. nardus</i>	-3,07± 1,42	161,66± 18,41**	2	77,08	0,0001	0,96
Citronelal	-2,57±1,64	175,18±21,23**	2	68,08	0,0002	0,95
Testemunha	0,00000	0,00000	2	-----	-----	1,00

EPM = Erro padrão da media;  $\beta_0$  e  $\beta_1$  = Coeficiente da equação  $Y = \beta_0 + \beta_1 * x$ ; GL<sub>erro</sub> = Grau de liberdade; F<sub>calc</sub> = F calculado; P = Probabilidade; r<sup>2</sup> = Coeficiente de determinação; \*\* Significativo a 1 a 5 % de probabilidade

Os tempos letais TL<sub>50</sub> e TL<sub>95</sub> das concentrações dos óleos essenciais em *S. zeamais* são apresentados na Tabela 3. O TL<sub>50</sub> do óleo de *E. citriodora* nas concentrações 3,0, 4,0, 5,0 e 6,0 µL/g, variaram de 9,22 a 49,22 horas; do óleo de *C. nardus* nas concentrações de 3,0, 4,0, 5,0 e 6,0 µL/g, variaram de 12,77 a 51,94 horas; e o TL<sub>50</sub> do composto majoritário citronelal nas concentrações 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 µL/g variaram de 1,39 a 11,89 horas no TL<sub>95</sub> esta variação foi de 44,49 a 131,21 horas nas concentrações descritas anteriormente de *C. nardus*; e de 41,11 a 129,180 horas para óleo de *E. citriodora*; de 7,81 a 59,50 horas para composto majoritário citronelal.

De acordo com as análises de regressão linear ( $Y=\beta_0+\beta_1*x$ ), para o óleo de *C. nardus* e *E. citriodora* (3,0, 4,0, 5,0 e 6,0 µL/g) e do composto majoritário citronelal (1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 µL/g). A inclinação da reta da regressão foi aumentando de acordo com o aumento da mortalidade dos insetos mostrado na Tabela 4. Os valores dos tempos letais TL<sub>50</sub> e TL<sub>95</sub> diminuíram de acordo com o aumento da concentração.

**Tabela 3.** Tempo (h) necessário para controlar 50% e 95% da população sobre o efeito dos diferentes óleos essenciais *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus* e o composto majoritário citronelal na mortalidade de *S. zeamais*.

Óleos essenciais	Conc. (µL/g de grãos)	Inclinação ± EPM	TL <sub>50</sub> (horas)	IC (TL <sub>50</sub> )	TL <sub>95</sub> (horas)	IC (TL <sub>95</sub> )	X <sup>2</sup>	P
<i>E. citriodora</i>	3	3,92±0,43	49,22	32,99-64,44	129,18	91,00-330,20	3,03	0,100
	4	2,81±0,42	24,75	17,65-30,58	95,17	76,36-136,08	2,54	0,325
	5	3,85±0,64	23,98	18,37-28,36	63,99	52,70-89,14	1,16	0,199
	6	2,53±0,74	9,22	1,38-16,02	41,11	30,14-63,45	0,70	0,236
<i>C. nardus</i>	3	4,08±0,44	51,94	36,32-66,94	131,21	94,01-310,50	5,09	0,987
	4	4,77±0,62	27,95	17,10-36,23	61,80	46,40-125,56	0,54	0,181
	5	3,55±0,48	27,28	21,63-32,09	79,17	67,75-98,61	0,42	0,140
	6	3,03±0,74	12,77	6,18-17,80	44,49	35,25-65,61	0,74	0,249
Citronelal	1,5	1,27±0,14	11,89	6,42-19,45	59,50	56,61-114,05	1,69	0,424
	2,0	1,13±0,13	5,63	2,42-9,58	32,13	18,54-59,33	3,18	0,795
	2,5	0,88±0,13	1,38	0,25-3,04	7,81	4,85-9,22	2,03	0,508

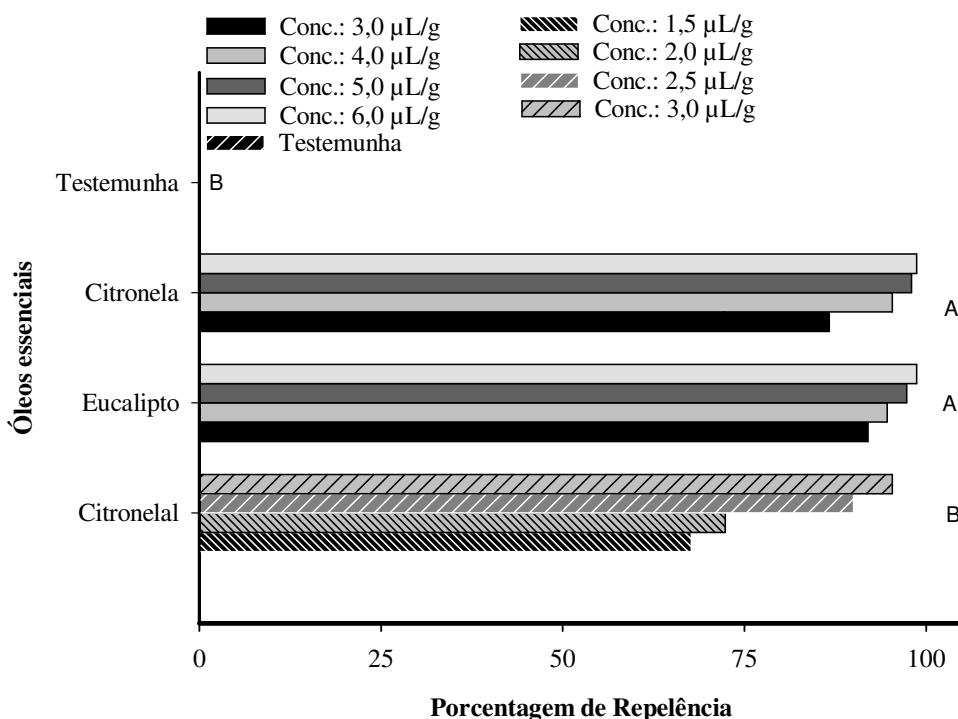
EPM = erro padrão da média; TL = Tempo letal (horas); IC = Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; X<sup>2</sup> = Qui-quadrado; P = Probabilidade Conc. = Concentração.

**Tabela 4.** Estimativa dos coeficientes da equação  $Y=\beta_0+\beta_1*x$  para predizer o tempo letal para controlar 50 e 95% da população sobre o efeito dos diferentes óleos essenciais *E. citriodora* e *C. nardus*. e o composto majoritário citrionelal na mortalidade de *S. zeamais*.

Óleos essenciais	Conc (µL/g)	Parâmetros estimados					
		$\beta_0(\pm\text{EPM})$	$\beta_1(\pm\text{EPM})$	GL <sub>erro</sub>	F <sub>calc</sub>	P	r <sup>2</sup>
<i>E. citriodora</i>	3,0	1,32 (±3,41)	0,39(±0,04)**	3	69,82	0,0011	0,97
	4,0	1,95 (±6,03)	0,48(±0,10)*	3	22,57	0,0170	0,93
	5,0	4,95(±5,84)	0,68(±0,13)*	3	27,32	0,0347	0,96
	6,0	6,91 (±13,88)	1,02 (±0,44)	3	5,13	0,2645	0,91
<i>C. nardus</i>	3,0	0,45(±2,85)	0,38(±0,03)**	3	97,30	0,0006	0,98
	4,0	2,85(±5,21)	0,54(±0,08)**	3	38,32	0,0085	0,96
	5,0	3,57 (±3,98)	0,65(±0,08)*	3	55,32	0,0176	0,98
	6,0	6,20(±15,46)	1,01(±0,49) <sup>ns</sup>	3	4,18	0,2895	0,89
Citrionelal	1,5	5,38(±2,12)	0,92(±0,11)**	3	64,84	0,0013	0,97
	2,0	9,34(±4,47)	1,16(±0,36)*	3	10,33	0,0488	0,88
	2,5	14,92(±10,54)	2,27(±1,56)	3	2,11	0,2832	0,71
	3,0	14,75(±17,95)	4,53(±5,11)	3	0,78	0,5382	0,66

EPM = Erro padrão da media;  $\beta_0$  e  $\beta_1$  = coeficiente da equação  $Y = \beta_0 + \beta_1 X$ ; GL<sub>erro</sub> = Grau de liberdade; F<sub>calc</sub> = F calculado; P = probabilidade; r<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; \*\* significativo a 1 a 5 % de probabilidade

Nos bioensaios realizados de óleos de *C. nardus*, *E. citriodora* e o composto majoritário citronelal, verificou-se menor percentagem de Repelência (PR) de 70% para *S. zeamais* do composto majoritário citronelal na concentração 3,0 µL/g (Figura 2). A repelência de *S. zeamais* nos óleo de *C. nardus* variou de 78 a 97 %; para o óleo de *C. nardus* nas concentrações de 3,0, 4,0, 5,0 e 6,0 µL/g; e de 81, a 96 %; para o óleo de *E. citriodora* nas concentrações de 3,0, 4,0, 5,0 e 6,0 µL/g) (Figura 2), com diferenças significativas entre os óleos essências de *C. nardus* e *E. citriodora* e o composto citronelal sobre a repelencia de *S. zeamais*.

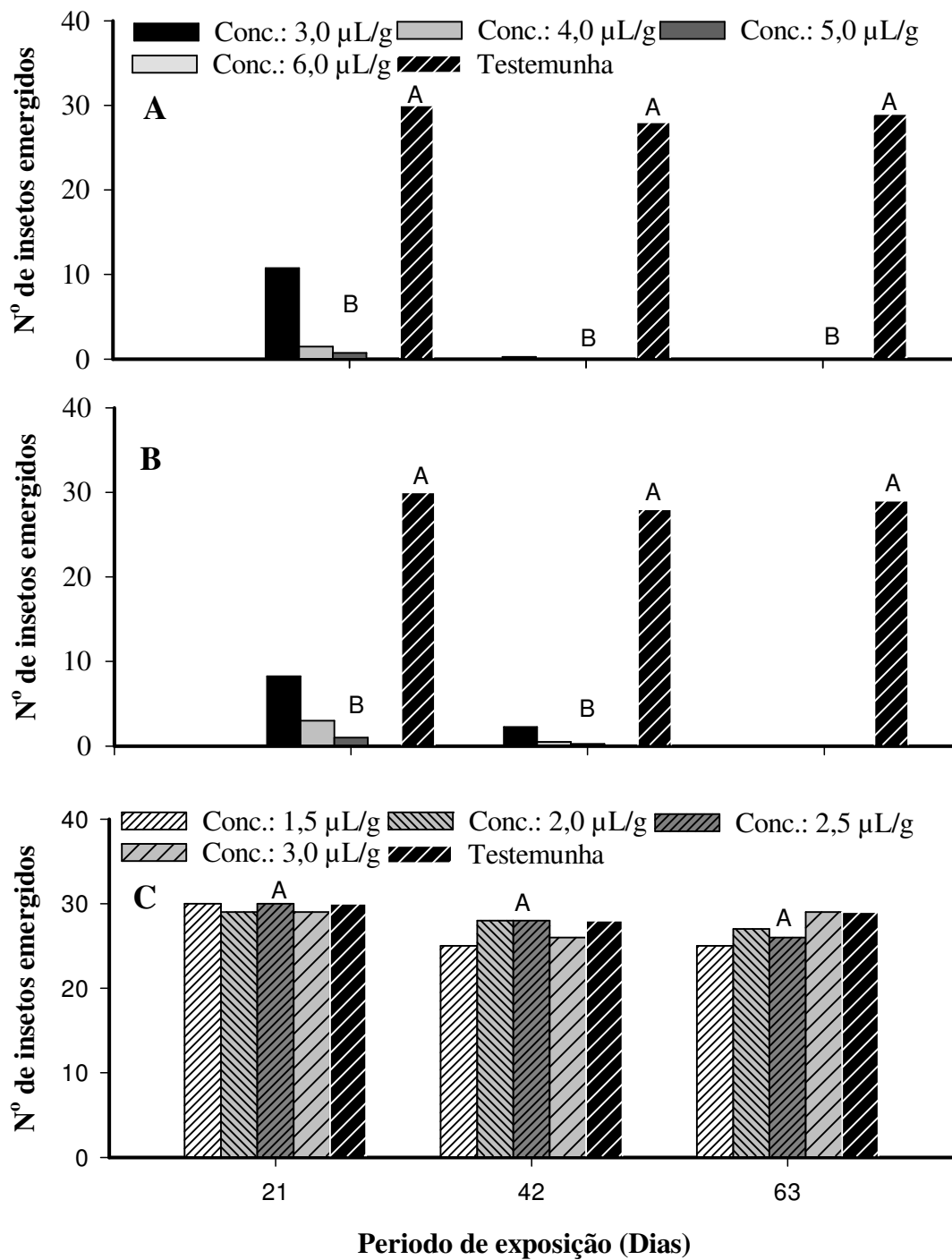


**Figura 1.** Bioensaio de repelência dos óleos essencial de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus* e do composto Citronelal medias dos percentuais de repelência tratamentos seguida mesma de letra maiúscula diferem entre si ao nível de 5% probabilidade pelo teste de Tukey

A toxicidade dos óleos de *E. citriodora*, *C. nardus* e do composto majoritário citronelal sobre a emergência de *S. zeamais* (Figuras 3 ABC), verifica-se o número de isetos emergidos nos grãos tratados com óleos foi mais acentuados aos 21 dias, diminuindo gradativamente a emergencia até aos 63 dias de exposição. No período de 63 dias após os grãos serem pulverizados não houve insetos emergidos. O óleo de *C. nardus* houve diferença

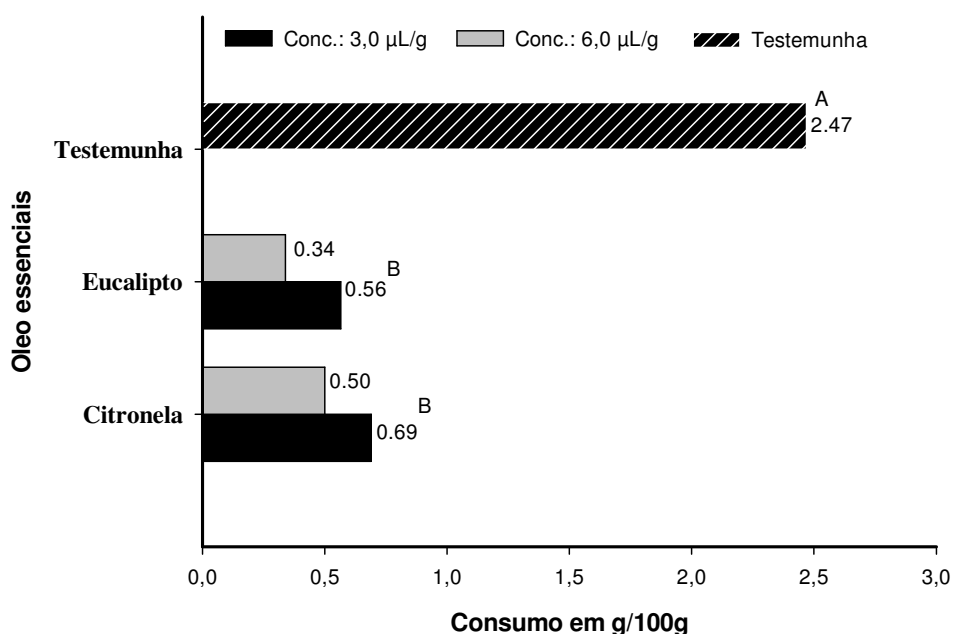


significativa entre o número de insetos emergidos, aos 21 dias de exposição (Figura 3B). Da mesma forma, foi observado com o óleo de *E. citriodora* com diferenças significativas entre o número de insetos emergidos (Figura 5A). Enquanto que no composto majoritário citronelal não houve diferenças entre o número de insetos emergidos, assim como, entre as concentrações utilizadas (Figura 3C).



**Figura 3.** Emergência de adultos de *Sitophilus zeamais* a partir de grãos de milhos pulverizados com óleos essenciais. Sendo (A) *Eucalyptus citriodora* (B) *Cymbopogon nardus* (C) Citronelal tratamentos seguida mesma de letra maiúscula diferem entre si ao nível de 5% probabilidade pelo teste de Tukey

A redução da massa de grãos por *S. zeamais* apresentou diferenças significativas entre os óleos de *C. nardus* e *E. citriodora* com diferenças mais de 100% na preservação da massa de grãos nas concentrações de 3,0 e 6,0  $\mu\text{L/g}$  (Figura 4), Contudo observa-se menor redução da massa pelo inseto com a concentração de 6,0  $\mu\text{L/g}$  já com relação aos óleos Sendo o óleo de *E. citriodora* mais efetivo na proteção da massa de grãos, com melhor efeito de deterencia das concentrações.



**Figura 4.** Efeito do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus* na proteção da massa de grão do ataque de *Sitophilus zeamais* Teste de tukey seguida de mesma letra maiúscula não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4. DISCUSSÃO

Todos os óleos tiveram atividade bioativa ao *S. zeamais*, contudo o óleo de eucalipto apresentou maior toxicidade em comparação como óleo de *citronela* (Tabela 2). Ambos os óleos apresentou propriedades de repelência e ação sobre emergência dos insetos adultos de *S. zeamais*. A diferença apresentada na toxicidade apresentada pelos óleos essencial de *E. citriodora* e *C. nardus* pode está associada a composição dos diferentes compostos majoritários. Dessa forma, a composição dos constiuintes os óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus* apresentam atividade comprovada para *S. zeamais* e outros insetos de grãos armazenados como *Acanthoscelides obtectus* (PAPACHRISTOS & STAMOPOULOS, 2002; SANDI & BLANCO, 2007).

As diferentes respostas do *S. zeamais* aos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* podem estar relacionadas a concentração de alguns monoterpenos como  $\alpha$ -pineno, cineol, geraniol, citronelol e citronelal sempre presente nos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus*. Conforme trabalhos desenvolvidos por Coitinho et al. (2006) demonstram que são componentes comuns com atividade de repelente de insetos. Dessa forma, nos presentes bioensaios realizados verificou-se que o composto majoritário citronelal apresentou alta toxicidade para controlar *S. zeamais*, indicando excelente potencial inseticida ao controle de insetos de grãos armazenados.

A toxicidade do constituinte citronelal esta diretamente relacionada com o tempo exposição, assim como na repelência dos insetos (Tabelas 3 e Figura 2). Sendo observado nos bioensaios, que a toxicidade apresentada pelos óleos de *E. citriodora* e *C. nardus* para *S. zeamais* está relacionado com a concentração do majoritário citronelal presente em de cada óleo, diferindo assim a toxicidade e tempo requerido para controlar *S. zeamais*. Estudos recentes com de óleos essenciais *E. citriodora* e *C. nardus* demonstram que a concentração e a composição dos compostos majoritários são determinantes na bioatividade para pragas de grãos armazenados (LEE et al., 2004; JAYASEKARA et al., 2005; MOREIRA et al., 2005; FAZOLIN et al., 2007).

A atividade tóxica apresentada (Tabela 3) pelos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus* pode está associado à inibição da acetilcolisterase. De acordo o trabalho desenvolvido por LÓPEZ et al. (2010) comprovam que a toxicidade de alguns monoterpeno tem ação de inibidores competitivos de acetilcolinesterase em experimento contra *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and *Cryptolestes pusillus* Schönherr (Coleoptera: Cucujidae). À ação tóxica dos óleos essenciais

de *C. nardus* apresentou se toxicidade próxima apresentada pelo óleo de *E. citriodora* essa proximidade pode estar relacionada ao efeito de sinergismo (SAVELEV et al., 2003). Dessa forma, a toxicidade apresentada pelos óleos essenciais obtidos no estado do Tocantins, não diferem de outros resultados descritos na literatura, com atividade ovicida, repelente e atividades de inseticida para vários insetos de produto armazenados (ISMAN, 2006; TATSADJIEU et al., 2007) A concentração letal dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* contra *S. zeamais* comprova a alta toxicidade do composto majoritário citronelal para *S. zeamais*. Dessa maneira, a menor toxicidade apresentada pelo óleo de *C. nardus* pode está associada à concentração do composto citronelal. De modo geral, verificou se que *C. nardus* tendo menor concentração de Citronelal apresenta alta toxicidade para *S. zeamais*, isto pode está relacionado com ação de sinergismo entre os presentes nos óleos essenciais (COITINHO et al., 2006).

A volatilização e degradação dos óleos essenciais e do composto majoritário citronelal pode ser um empecilho na proteção de grãos armazenado contra insetos praga. No entanto, para aplicação de óleos essenciais é necessário o desenvolvimento de tecnologias que permita maior permanência dos compostos junto à massa de grãos, aumentando assim a eficiência de controle manutenção na preservação dos grãos. Contudo, verifica se que na aplicação isoladamente do composto majoritário citronelal deve ser adicionado como adjuvante que permita a persistência junto à massa de grãos, conforme os resultados demonstrados, ha rapida volatilização do composto e nãohavendo efeito na proteção dos grãos (Figura 2). Dessa forma, a baixa persistência em todas as concentrações usadas, ocasionando a reinfestação da massa de grãos. Ao contrário dos óleos concentrados que foram altamente eficientes na proteção da massa de grãos (Figura 3 A e B). O efeito na mortalidade de adultos de *S. zeamais* pode estar associado a ação de contato e ingestão dos óleos essenciais, características estas obsevdadas em bioensaios com óleos essenciais (SHAAYA et al., 1997; HUANG et al., 2000; LEE et al., 2003).

A repelência dos insetos aos óleos essenciais e ao composto citronelal foi diferentes em função da concentração e do óleo. O óleo de *E. citriodora* apresentou maior repelência quando comparado com o óleo de *C. nardus* e do composto majoritário citronelal. A alta atividade de repelente dos óleos essenciais é geralmente atribuída para alguns compostos majoritários presentes. Conforme observado neste trabalho, resultados descritos na literatura comprovam que o efeito de repelência dos óleos essenciais pode resultar em maior repelência quando comparativamente aos compostos isoladamente (HUMMELBRUNNER & ISMAN, 2001; GILLIJ et al., 2008).

Os resultados de repelência de *S. zeamais* em teste de chance estão associados à capacidade do inseto de detectar óleos essenciais através do olfato, evitando-os quando tem chance de escolha (JAYASEKARA et al., 2005). Sendo assim, o efeito repelente é uma propriedade relevante a ser considerada na escolha de um óleo essencial ao controle de pragas de grãos armazenados. De modo geral, quanto maior a repelência, menor será a infestação, resultando na redução ou supressão da postura e, conseqüentemente, do número de insetos emergidos como os óleos essenciais de *C. nardus*. e *E. citriodora*.

A atividade dos óleos sobre a emergência dos insetos adultos de *S. zeamais* pode estar associado à toxicidade dos óleos voláteis tóxico reduzindo a eclosão de ovos, devido à toxicidade apresentada pelos vapores sobre os ovos (SCHMIDT et al., 1991) ou pela absorção dos ovos dos compostos majoritário, assim afetando os processos biológicos associados desenvolvimento embrionário (GURUSUBRAMANIAN & KRISHNA, 1996). As atividades dos óleos essenciais no desenvolvimento larval, em concentrações subletais ocasionam graves alterações morfológicas na metamorfose e pode inibir a emergência dos adultos de *S. zeamais*. Por isso, óleos voláteis são classificados como reguladores de crescimento de insetos na fase de adulta (RCI) (KHATER & SHALABY, 2008; KHATER & KHATER, 2009; KHATER et al., 2009).

Adicionalmente a outros trabalhos em que é apresentado o potencial da utilização de óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora*, como fumigante (KHATER et al., 2009), verificou-se, neste estudo, que os óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* poderá tornar-se uma alternativa aos inseticidas convencionais. Considerando se os elevados níveis de resistência aos inseticidas em insetos-praga de produtos armazenados no Brasil (LORINI et al., 2007; PIMENTEL et al., 2007; 2009) e o potencial de uso extrato de plantas com bioatividade, pode-se inferir que uso desses óleos pode ser alternativa para ser utilizada nos programas de manejo de resistência a inseticidas convencionais. Uma das prerrogativas para diminuir a velocidade de estabelecimento de populações com alta frequência de genes que conferem resistência a determinado agente de controle, é o emprego de mistura de inseticidas, uso alternado ou em mosaico de dois ou mais inseticidas (SOUSA et al., 2008). Com o uso de diferentes agentes de controle os genótipos resistentes apresentam desvantagem reprodutiva na ausência do agente seletivo, permitindo o aumento da frequência dos genótipos suscetíveis (KOLACZINSKI & CURTIS, 2004).

## 5. CONCLUSÕES

- O óleo essencial de *E. citriodora* tem mortalidade necessitando de menor período de exposição para controlar insetos adultos de *S. zeamais*.
- O composto majoritário citronelal é mais tóxico que os óleos essenciais de eucalipto e citronela.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gás chromatography/ mass spectrometry. **Allured Publishing Corporation. Carol Stream**, p.804, 2007.

BENHALIMA, H.; CHAUDHRY, M.Q.; MILLS, K.A.; PRICE, N.R. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Marocco, **Journal of Stored Products Research**, v.40, p.241-249, 2004.

BIAZUS, J. P. M.; SEVERO JR, J. B.; SANTANA, J. C. C.; SOUZA, R. R.; TAMBOURGI, E. B. Study of amylases recovery from maize malt by ion-exchange expanded bed chromatography, **Process Biochemistry**, v.41, p.1786-1791, 2006.

CASTRO, D.P.; CARDOSO, M.G.;; MORAES, J.C.; SANTOS, N.M. & BALIZA, D.P. Não preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: *Noctuidae*) por óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L., **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, v.8, p.27-32, 2006.

COITINHO, R.L.B.C.; OLIVEIRA, J.V.; GONDIM JÚNIOR, M.G.C. & CÂMARA, C.A.G. Toxicidade de óleos para adultos de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera, Curculionidae) em grãos de milho armazenados, **Revista Brasileira Armazenamento**, v.31, p.29-34, 2006.

CHAGAS, A.C.S.; PASSOS, W.M.; PRATES, H.T.; LEITE, R.C.; FURLONG, J.; FORTES, I.C.P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*, **Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, p.247-253, 2002.

DEMISSIE, G.; TESHOME, A.; ABAKEMAL, D. & TADESSE, A. Cooking oils and “Triplex” in the control of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), **Journal Stored Products. Research**, v.44, p.173-178, 2008.



FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. de. Atividade inseticida do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum. (Bignoneaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae), **Acta Amazonica**, v.37, p.599-603, 2007.

FERREIRA, G. B.; EVANGELISTA, A. F.; SEVERO JUNIOR, J. B.; SOUZA, R. R.; SANTANA, J. C. C.; TAMBOURGI, E. B.; JORDÃO, E. Partitioning Optimization Of Proteins From *Zea Mays* Malt In ATPS PEG 6000/CaCl<sub>2</sub>, **Archives of Biology and Technology**, v.50, n.3, 557-564, 2007.

FINNEY, D.J. Probit analysis, 3<sup>a</sup> ed. London: **CambridgeUniversity Press**, 1971.

GILLIJ, Y.G.; GLEISER, R.M.; ZYGADLO, J.A. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina, **Bioresource. Technology**, v.99, p.2507-2515, 2008.

GURUSUBRAMANIAN, G.; KRISHNA, S.S. The effect of exposing eggs of four cotton insect pests to volatiles of *Allium sativum* (Liliaceae), **Entomological Research**, v.86, p.29-31, 1996.

HUANG, Y.; HO, S.H. & KINI, R.M. Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), **Journal Economic Entomology**, v.92, p.676-683, 1999.

HUANG, Y.; LAM, S.L. & HO, S.H. Bioactivies of essential oil from *Ellateraria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst), **Journal. Stored Product. Research**, v.36, p.107-117, 2000.

HUMMELBRUNNER, L.A.; ISMAN, M.B. Acute, sublethal, antifeedant and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep. Noctuidae), **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.715-720, 2001.

IBGE. (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> >. Acesso: 26/nov./2008.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world, **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45-66, 2006.

JAYASEKARA, T.K.; STEVENSON, P.C.; HALL, D.R. & BELMAIN, S.R. Effect of volatile constituents from *Securidaca longepedunculata* on insect pests of stored grain, **Journal of Chemical Ecology**, v.31, p.303-313, 2005.

KARR, L.L. & COATS, J.R. Insecticidal properties of d-limonene, **Journal of Pesticide Science**, v.13, p.287-289, 1988.

KHATER, H.F.; KHATER, D.F. The insecticidal activity of four medicinal plants against the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). **International Journal of Dermatology**, v.48, p.492-497, 2009.

KHATER, H.F.; RAMADAN, M.Y.; EL-MADAWY, R.S.; ABDEL-MAGEED, A.D. Control of the myiasis-producing fly, *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae), with some Egyptian essential oils, **International Journal of Dermatology**, v.164, p.257-266, 2009.

KHATER, H.F.; SHALABY, A.A. Potential of biologically active plant oils to control mosquito larvae (*Culex pipiens*, Diptera: Culicidae) from Egyptian locality. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.2, p.107-112, 2008.

KOLACZINSKI, J. H & CURTIS, C. F. Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroids insecticides: a review of the debate, **Food chemical Toxicology**, v.42, p.697-706, 2004.

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

LEE, B.H.; ANNIS, P.C.; TUMAALII, F.; CHOI, W. Fumigant toxicity of essential oils from Myrtaceae family and 1,8-cineol against 3 major stored grain insects. **Journal of Stored Products Research**, v.40, p.553-564, 2004.

LORINI, I. Controle integrado de pragas de grãos armazenados. Passo Fundo: **EMBRAPA-CNPT**, p.60, 1998. (EMBRAPA-CNPT. Documento, 48).

LORINI, I. Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados, **embrapa trigo**, p.80, 2003.

LORINI, I.; COLLINS, P. J.; DAGLISH, G. J.; NAYAK, M. K.; PAVIC, H. Detection and characterisation of strong resistance to phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), **Pest Management Science**, v.63, n.4, p.358-364, 2007.

LÓPEZ, M.D.;PASCUAL-VILLALOBOS, M.J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v.31 p.284–288, 2010.

MARTINEZ, S.S. & VANEMDEN, H.F. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin, **Neotropical Entomology**, v.30, p.113-124, 2001.

MOREIRA, M. R.; PONCE, A. G.; DEL VALLE, C. E.; & ROURA, S. I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen, **Food Science and Technology**, v.38, n.5, p.565-570, 2005.

OBENG-OFORI, D. & AMITEYE, S. Efficacy of mixing vegetable oils with pirimiphos methyl against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky in stored maize, **Journal Stored Products Research**, v.41, p.57-66, 2005.

OBENG-OFORI, D. Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pusillus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain, **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.77, p.133-139, 1995.

PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas, **Manole**, p.359, 1991.

PAPACHRISTOS, D.P.; STAMOPOULOS, D.C. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae), **Journal of Stored Products Research**, v.38, p.117-128, 2002.

PARK, I.K.; LEE, S.G.; CHOI, D.H.; PARK, J.D.; AHN, Y.J. Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.), **Journal of Stored Products Research**, v.39, p.375-384, 2003.

PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.A.; TÓTOLA, M.R.; GUEDES, R.N.C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequence in stored-product insect, **Pest Management Science**, v.63, n.9, p.876-881, 2007.

PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.A.; TÓTOLA, M.R.; GUEDES, R.N.C. Phosphine resistance, in brazilian population of *Sitophilus zeamais* Motschusky (coleoptera curculionidae), **journal stored product insect Pest Management Science**, v.45, n.9, p.71-74, 2009.

PRATES, H.T.; SANTOS, J.P. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados. p.443-461. in LORINI, I.; MIKE, L.H.; SENSSEL, V.M. (eds.), Armazenagem de grãos, **Instituto Bio Geneziz**, p.1000, 2002.

RAJENDRAN, S. & SRIRANJINI, V. Plant products as fumigants for stored-product insect control, **Journal Stored Products Research**, v.44, p.126-135, 2008.

RIBEIRO, B.M.; GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, E.E. & SANTOS, J.P. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), **Journal Stored Products Research**, v.39, p.21-31, 2003.

SANDI, J.T.; BLANCO, R. F. Atividade inseticida do óleo essencial obtido de eucalipto *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus globulus* L. (myrtaceae), sobre o gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*, (coleoptera: curculionidae), **Revista de Biologia**, v.1, n.1, p.93-100, 2007.

SCHMIDT, G.H.; RISHA, E.M.; NAHAL, A.K.M. Reduction of progeny of some stored product Coleoptera by vapors of *Acorus calamus* oil, **Journal. Stored Products. Research**, v.27, p.121-127, 1991.

SHAAYA, E.; KOSTJUKOVSKI, M.; EILBERG, J.; SUKPRAKAM, C Plant oils as fumigant and contact insecticides for the control of stored product insects. **Journal Stored Products Research**, v.33, p.7-15, 1997.

SHASANY, A.K.; LAL R.K.; PATRA, N.K.; DAROKAR, M.P.; GARG, A. KUMAR, S. & KHANUJA, S.P.S. Phenotypic and RAPD diversity among *Cymbopogon Winterianus* Jowitt accessions in relation to *Cymbopogon nardus* Rendle. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.47, n.5, p.553-559, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES C. M. O et al. Farmacognosia da planta ao medicamento, **5. ed. Editora da UFRGS/Editora da UFSC**, p.468-495, 2004

SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R. N. C.; TÓTOLA, M. R.; URRUCHI, W. I. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect-pests of stored products, **Journal of Stored Products Research**, v.44, p.379-385, 2008.

TAPONDJOU, L.A.; ADLER, C.; BOUDA, H. & FONTEM, D.A. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles, **Journal of Stored Products Research**, v.38, p.395-402, 2002.

TATSADJIEU, N. L.; NGASSOUM, M. B.; NUKENINE, E. N.; MBAWALA, A. & YAOUBA, A. Antifungal and anti-insect activities of three essential oils on *A. flavus* link and *S. zeamais* Motsch. **Natural Product Communication**, v.12, p.1291-1294, 2007.

VANDENDOLL, H. & KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal Chromatography**, v.11, p.463-471, 1963.

## **CAPITULO II**

### **AVALIAÇÃO DO EFEITO FUNGISTÁTICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus citriodora* E *Cymbopogon nardus***

## RESUMO

*Aspergillus sp*, *Pyricularia grisea* e *Colletotrichum musae* são fungos fitopatogênicos, colonizadores de tecidos vegetais e depreciadores dos frutos. À busca de novos produtos com atividade antifúngica tornam-se necessários para no controle desse microrganismo. Nesse contexto, destacam-se os óleos essenciais os quais possuem poder antimicrobiano. Dessa maneira, este estudo objetivou-se em avaliar o efeito fungistático dos óleos essenciais de *C. nardus*, *E. citriodora* e do composto citronelal em fungos *Aspergillus sp*, *P. grisea* e *C. musae*. Os ensaios antifúngicos foram constituídos do *screening* microbiológico, na determinação da concentração inibitória (CI<sub>50</sub>) pelo contato direto e por fumigação dos óleos essencial e do constituinte citronelal. Todos os óleos essenciais inibiram os fungos testados. A CI<sub>50</sub> de contato e de fumigação para *Aspergillus sp*, *P. grisea* e *C. musae* foi dependente da concentração do óleo essencial. Sendo o citronelal com maior atividade para *C. musae* tanto em contato direto e nos teste de fumigação. O óleo essencial a 60 e 80 ppm impediu fortemente o desenvolvimento micelial de todos os fungos testados. Diante disso, conclui-se que o óleo essencial de *C. nardus* e *E. citriodora* mostrou uma forte atividade inibitória contra os *Aspergillus sp*, *P. grisea* e *C. musae* e, conseqüentemente, pode ser considerado como potencial no controle de fitopatogenos.

**Palavras-chaves:** *Aspergillus*, Brusone, Antracnose, citronela e eucalipto

## ABSTRACT

### FUNGSTATIC AFFECT EVALUATION OF THE ESSENTIAL OILS OF *Eucalyptus citriodora* AND *Cymbopogon nardus*

*Aspergillus sp*, *Pyricularia grisea* and *Coletrotichum musae* are the main phytopatogenic fungus colonizing vegetable tissue, and decreasing fruit. and grains' quality. The search for alternative fungicide products became necessary to control these microorganisms. The objective of this study was to evaluate the fungistatic affect of the essential oils of *C. nardus*, and *E. Citriodora* and citronelal's composite against *Aspergillus sp*, *P. grisea* and *C. musae*. Antifungicide experiments were constructed by microbiologic *screening* to determined inhibitory concentration (CI<sub>50</sub>) by direct contact, and by fumigation of essential oils, and by citronelal's composite; and resulted on micelial growth analysis. All essential oils and citronelal's composite inhibited the tested fungus. Contact and fumigation testing on *Aspergillus sp*, *P. grisea* and *C. musae* were dependent on the essential oils' concentration; where citronelal had the higher inhibitd activity on *C. Musae* both by direct contact and by fumigation. The essential oil at both 60 and 80 ppm strongly impeded the micelial development on all tested fungus. Therefore, it was concluded that the essential oil of *C. nardus* and *E. Citriodora* displayed a strong inhibitory activity against *Aspergillus sp*, *P. grisea* and *C. musae*; consequently these oils can be considered a potential product with antifungicide properties, especially on the control of phytopatogens.

Keyword: *Aspergillus*, blast, Anthracnose, citronella, eucaliptus



## 1. INTRODUÇÃO

Doenças em plantas têm contribuído significativamente na redução da produção e no fornecimento de alimentos à população (CASTRO et al., 2006). No entanto, varias espécies de fungos influencia diretamente na produção de alimentos e podem causar danos no desenvolvimento da planta e durante a etapa de armazenamento de grãos. Com dano direto desde a germinação, emboloramento visível, descoloração, odor desagradável, perda de matéria seca, aquecimento, cozimento, mudanças químicas e nutricionais com conseqüente perda da qualidade (PASTER & BULLERMAN, 1988). Entre os fungos de importância econômica destaca o gênero *Aspergillus*, que produzem micotoxinas que causam efeitos adversos na saúde humana e animal (SAMSON & VARGA 2007; SANSON & PITT, 2000). Além do *Aspergillus*, outro fungo de importância econômica de pós-colheita é o *Colletotrichum musae* (Berk & Curtis) nas regiões produtoras de bananas (*Musa spp.*) ocasionando a depreciação dos frutos, sérios prejuízos aos produtores (ABAYASEKARA et al., 1998). Principalmente, devido a manipulação inadequadamente dos frutos (DHINGRA, 1985).

Entre os diversos tipos de fungos fitopatogênicos que comprometem o desenvolvimento de planta de arroz (*Oryza sativa*) destaca o fungo da brusone *Pyricularia grisea*. (Cooke) Sacc. *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr com grande número de hospedeiros, ocorre em mais de 50 espécies de gramíneas (DIAS MARTINS, 2004). A doença tem sido um desafio aos orizicultores, e constitui-se um dos fatores limitantes na produtividade do arroz irrigado e sequeiro, em todo o território brasileiro e no mundo (IGARASHI et al., 1986). A procura por alternativas eficientes de controle desses fitopatogenos, sem implicações adversas aliada ao crescimento da demanda de consumo por produtos alimentares seguros, vem se intensificando nos últimos anos a procura por métodos de controle alternativos (NASCIMENTO et al., 2007). Dentre eles, destaca os metabolitos secundários, com propriedades antifúngicas e antimicrobianas (REHDER et al., 2004; ALMEIDA et al., 2006; ARRUDA et al., 2006; NUNES et al., 2006; SANTOS et al., 2007). O óleo essencial de *Eucalyptus sp* e *Cymbopogon nardus* e seus constituintes principais possuem atividade fungitoxica fungos, reduzido o crescimento micelial e a produção de esporos e germinação (FIORI et al., 2000; SU et al., 2006; VILELA et al., 2009). Podendo apresentar atividade direta ou indireta, ativando mecanismos de defesa das plantas aos patógenos (FRANZENER et al., 2003; MOREIRA, 2003; SCHWAN-ESTRADA;

STANGARLIN, 2005). Atualmente, não tem relatos sobre o efeito no controle de fitopatógenos como *Aspergillus sp*, *C. musae* e *P. grisea*.

Considerando a importância dos desses fungos este trabalho teve por objetivos de avaliar o efeito fungistático dos óleos essenciais de *C. nardus*, *E. citriodora* e do composto Citronelal na inibição do crescimento micelial dos fungos *Aspergillus sp*, *P. grisea* e *C. musae*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 local

O trabalho foi realizado na Universidade Federal do Tocantins Campus Universitário de Gurupi no laboratório de Fitopatologia situada na cidade de Gurupi-TO.

### 2.2 Obtenção dos fungos fitopatogênicos

As três espécies de fungos foram obtidas a partir de isolados de frutos de banana o *C. musae* de acordo postulado de KOCH. Com os seguintes procedimentos desinfecção realizada com água sanitária a 1% e álcool a 2% por 30 minutos também pelo mesmo tempo o material foi lavado em água destilada estéril, logo após foram recortadas e transferidas para placa de petri em meio de cultura BDA (Batata Dextrose Agar) ficou em incubação em estufa em temperatura 27 °C por sete dias até o desenvolvimento do fungo. Após o isolamento dos fungos foi realizada a identificação de acordo a metodologia desenvolvida por (ARX, 1974; BARNETT & HUNTER, 1972).

### 2.3 Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram obtidos plantas de *E. citriodora* e *C. nardus* colhidas no Campus Universitário de Gurupi na horta de plantas medicinais e produtores de *E. citriodora* foram picadas e pesadas 300 g por extração foram colocadas no balão com água 500 ml a extração foi por hidrodestilação modelo Clevenger (arraste de vapor) deixado por um período de 2,5 horas. Coletou-se o hidrolato, que em seguida foi centrifugado em centrífuga cruzeta horizontal a 1000 RPM por 5 minutos. O óleo essencial foi retirado com o auxílio de uma micropipeta e acondicionado em frasco de vidro âmbar envolto com papel alumínio mantendo-o sobre refrigeração a 4 °C. Para evitar sua volatilização e foto-oxidação dos compostos terpenoides metodologia segundo Castro (2006).

## 2.4 Identificações por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas (CG/EM)

A análise cromatográfica (CG) dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* foram divididas 3 amostra para cada óleo (CG-EM) dados publicados no capítulo I

## 2.5 Bioensaios de inibição micelial

Os bioensaios foram calculados  $CI_{50}$  dos óleos essenciais para os fungos *C. musae*, *P. grisea* e *Aspergillus sp* foram realizadas com diluições dos óleos essencial de *E. citriodora* e *C. nardus* (0,47, 0,63, 0,94, 1,26 e 1,57  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) e composto majoritário Citronelal (0,23, 0,31, 0,47, 0,63 e 0,79  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ). Para o tratamento com o fungo da antracnose as concentrações de *C. nardus* e *E. citriodora* (0,07, 0,15, 0,238, 0,31 e 0,47  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) e o composto majoritário (0,02, 0,31, 0,47, 0,63 e 0,79  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ). O experimento consistiu cinco concentrações dois óleos essenciais e o composto Citronelal com quatro concentrações e quatro repetições e testemunha, Aplicação dos óleos essenciais e do composto majoritário citronelal nas placas de Petri realizado com auxílio de uma haste de drigalski, para homogeneamente do óleo junto superfície do meio de cultura BDA, seguido da inoculação dos discos de micélio de 6 mm de diâmetro dos respectivos fungos, sendo colocado na porção central da placa de Petri de área superficial de 63  $\text{cm}^2$  e volume de 85 ml conforme avaliação do crescimento micelial a concentração foi em função das espécies de fungos em estudos. Sendo o período de sete em sete dias para *P. grisea*, dois em dois dias para os fungos *C. musae* e *Aspergillus sp*. Os dados foram avaliados Regressão linear e a determinação da  $CI_{50}$  (Concentração de Inibição de 50 %) pelos programas SAEG.

## 2.6 Bioensaio fumigação

Os bioensaios de fumigação “*in vitro*” foram realizados em placas de Petri de 85 mL de volume de contendo meio BDA (Batata dextrose Agar) para crescimento micelial. O procedimento de fumigação dos óleos essencial de *E. citriodora* e *C. nardus* e do composto majoritário citronelal consistiu em impregnação em papel filtro dos óleos nas concentrações de *C. nardus* e *E. citriodora* (0,023, 0,047, 0,070, 0,094, 0,117  $\mu\text{L}/\text{ml}$  de ar) e citronelal (0,023, 0,035, 0,047 e 0,058  $\mu\text{L}/\text{ml}$  de ar) para *Aspergillus sp* e *P. grisea*. Para o tratamento com o fungo da antracnose as concentrações de *C. nardus* e *E. citriodora* (0,02, 0,05, 0,11, 0,17 e 0,23  $\mu\text{L}/\text{ml}$  de ar) e o composto majoritário (0,02, 0,04, 0,07, 0,09 e 0,11  $\mu\text{L}/\text{ml}$  de ar)

papel foi acondicionado na parte de cima (tampa) da placa, o disco de micélio de 6 mm diâmetro foi colocado no centro da placa em meio BDA (Batata Dextrose Agar) (Figura 1B)

Foram avaliados os fungos *P.grisea*, *Aspergillus sp* e *C. musae* e depois fechado e vedado com plástico insulfilm para evitar contaminação de fungos ou bactérias do meio exterior, três fungos cinco concentrações dos óleos essenciais e quatro concentrações para o composto majoritário citronelal com quatro repetições para tratamento mais testemunha o tempo de avaliação foi de acordo com o início do crescimento micelial do fungo observado nas testemunhas para *P.grisea* que foi avaliado no período de sete em sete dias após a inoculação para e *Aspergillus sp* o tempo foi de dois em dois dias após inoculação sendo que para o composto citronelal utilizou se a metade da dose dos óleos modificado segundo Nakahara, et al. 2003.

. Os dados foram submetidos análise Regressão e para concentração de inibição  $CI_{50}$  pelos programas SAEG.

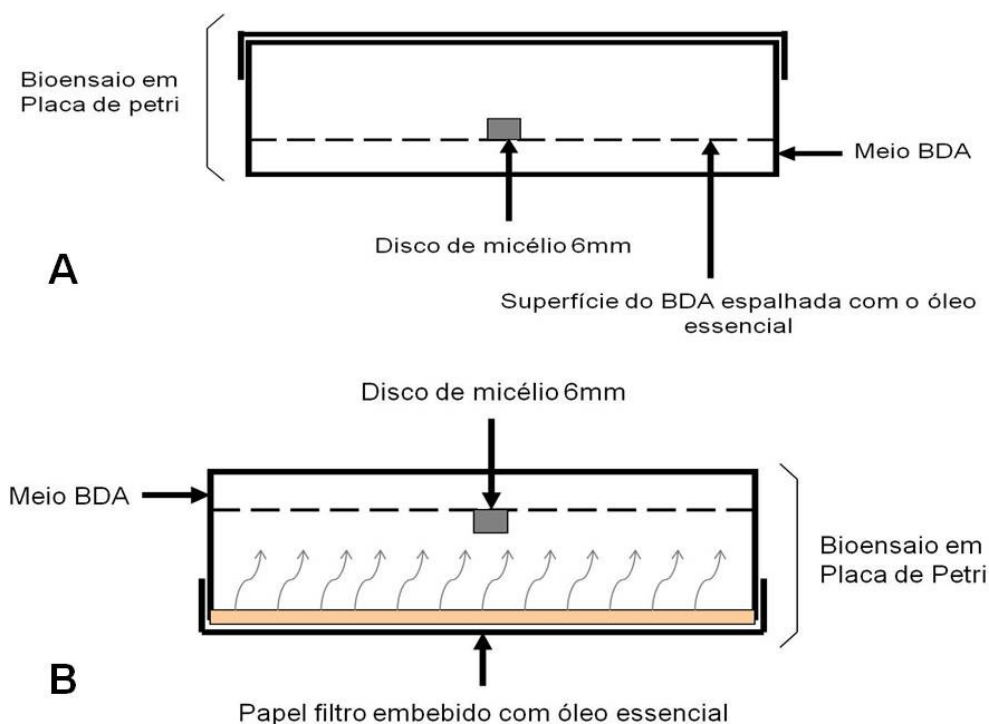


Figura 1 Esquema de representativo do bioensaios de inibição (A) placa de petri em meio BDA em óleo essenciais de *Cymbopogon nardus* e *Eucaliptus citriodora* e o composto majoritário citronelal. Fumigação (B) realizada em placa de Petri com papel filtro umedecido óleo essencial.

## 2.7 Avaliação do (ICM) Índice do Crescimento Micelial

Para avaliar o efeito dos óleos essenciais e do composto majoritário citronelal na velocidade crescimento micelial do fungo *P. grisea*, *Aspergillus sp* e *C. musae* foram adicionados em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) autoclavado. Posteriormente, foram adicionadas as concentrações dos óleos de *E. citriodora* e *C. nardus* na concentração (0,47, 0,63, 0,94, 1,26 e 1,57  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ), e do composto citronelal (0,23, 0,31, 0,47, 0,63 e 0,79  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) no tratamento com o fungo da antracnose as concentrações de *E. citriodora* e *C. nardus* (0,079, 0,158, 0,238, 0,310 e 0,470  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ), composto majoritário (0,23, 0,31, 0,47, 0,63 e 0,79  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ), com o controle meio BDA na ausência do óleo essencial. Os tratamentos foram aplicados em placa de petri de nove cm de diâmetro, com quatro repetições. Inseridos no centro de cada placa um disco de micélio de seis milímetros de diâmetro repicado de uma colônia dos respectivos fungos, após sete dias de crescimento em meio BDA (Batata Dextrose Agar). Após a repicagem as placas foram colocadas em câmaras de germinação a 27 °C por sete DAI (Dias após a inoculação) sob luz/escuro (12 horas) para os fungos *P. grisea* a avaliação iniciou se aos sete dias após a inoculação *Aspergillus* e *C. musae* devido o seu crescimento rápido o período foi de dois DAI (Dias após a inoculação). O índice de velocidade de crescimento micelial foi calculado segundo fórmula adaptada por Oliveira (1991).

$$\text{ICM} = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \frac{C_n}{N_n}$$

Onde:

ICM= Índice de Crescimento Micelial

C1, C2, Cn= Crescimento Micelial das colônias na primeira, segunda e última avaliação.

N1, N2, Nn= Números de dias.

Após a obtenção dos dados foram realizados análise de varianca e posteriormente aplicar o teste de tukey ao nível de 5 % de probabilidade com auxílio do programa SAEG

### 3. RESULTADOS

Os óleos essenciais apresentaram sete constituintes para *E. citriodora* e dez para *C. nardus* que foram identificados por CG-EM. Entre os compostos majoritários encontrados no óleo de *E. citriodora* destaca o citronelal com 61,78 %, seguido de isopolegol com 11,89 %. Enquanto, que no óleo de *C. nardus* os constituintes predominantes o citronelal 36,53 %, geraniol com 25,56 % e  $\beta$ -citraonolol 13,10 %. Em todos os óleos analisados houve predominância dos monoterpenos conforme mostrados na Tabela 1. De modo geral, todas as concentrações dos óleos essenciais e do composto majoritários citronelal exerceram a inibição do crescimento micelial dos fungos Tabela 2. Na concentração de 60 ppm do óleo de *C. nardus* e 80 ppm do óleo de *E. citriodora* houve, 100 % de inibição dos fungos (Figura 2). Além da inibição observou uma diferença na coloração apresentada por *Aspergillus* sp e *C. musae* em contato com óleo essencial de *C. nardus* (Figura 3).

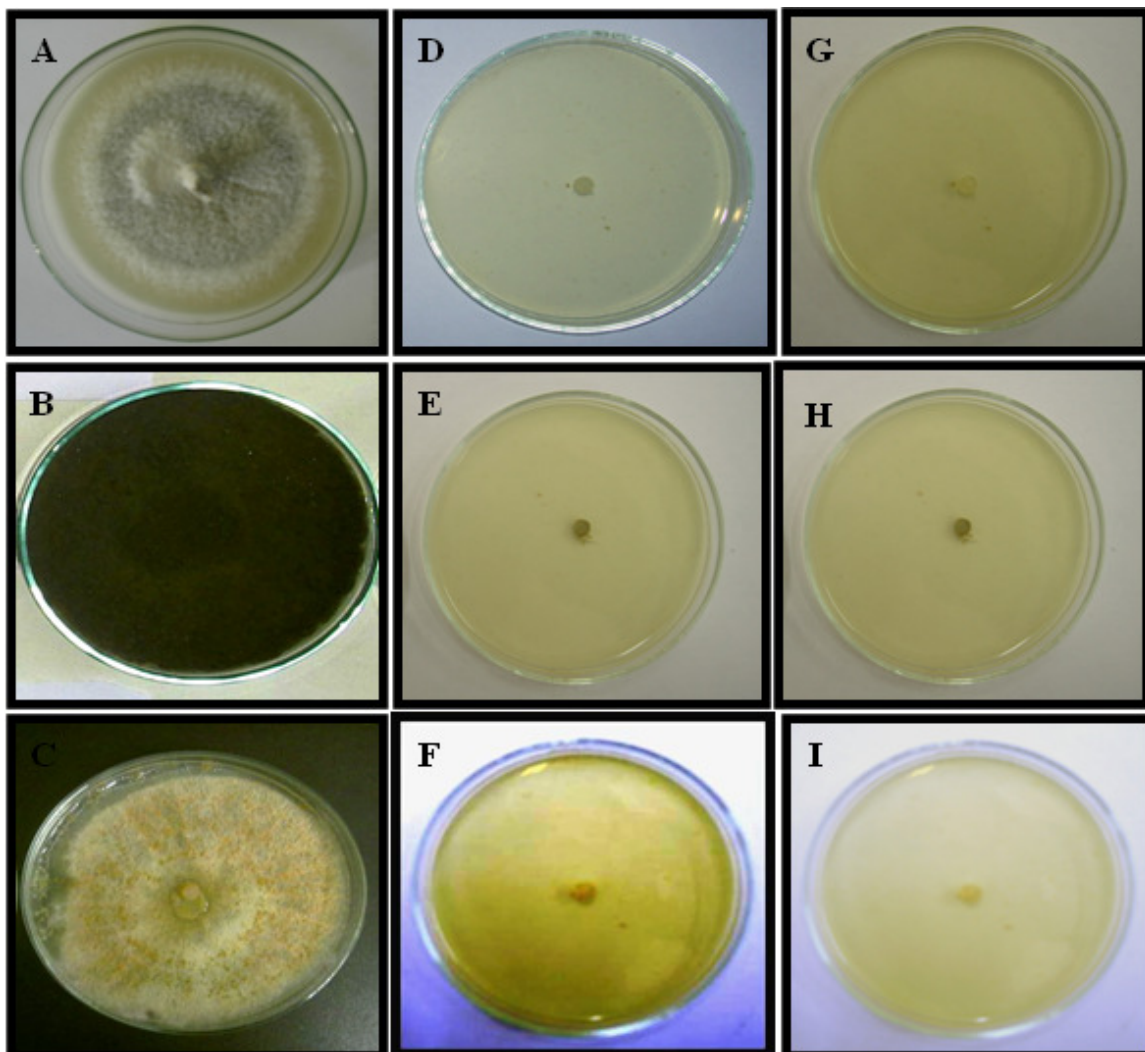


Figura 2. Inibição do crescimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp, *Colletotrichum musae* e *Pyricularia grisea* cultivado em meio de cultura BDA, na ausência e presença do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* e *Eucalyptus citriodora*. Experimento controle apresentando colônia de *P. grisea*, *Aspergillus* sp e *C. musae* (A, B e C, respectivamente). Inibição de crescimento micelial de *Pyricularia grisea*, *Aspergillus* sp e *Colletotrichum musae* na presença de óleo essencial de citronela (60 ppm) (C, D e F, respectivamente). Inibição de crescimento micelial de *P. grisea*, *Aspergillus* sp e *Colletotrichum musae* na presença de óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* (80 ppm) (G, H e I, respectivamente).



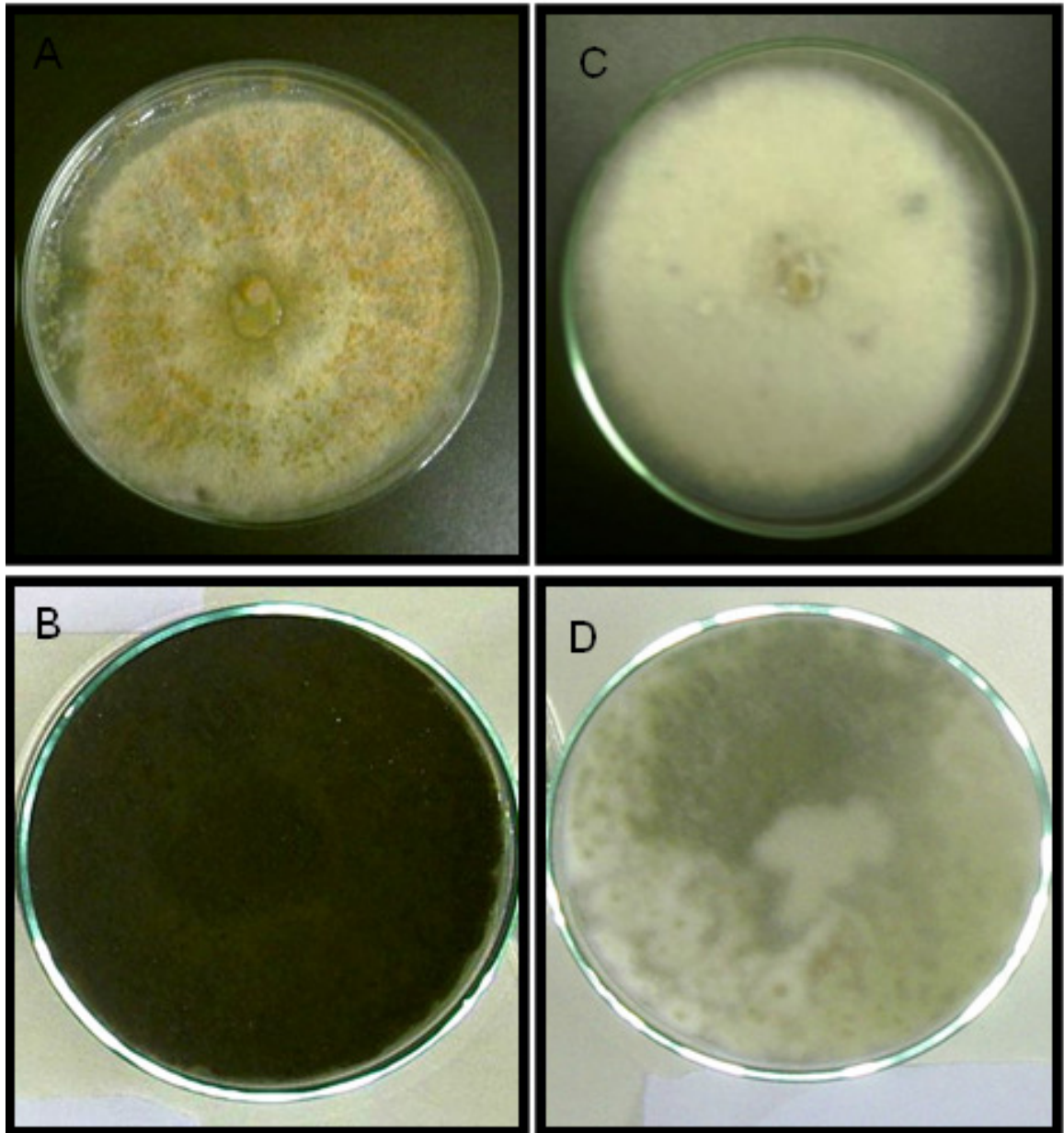


Figura 3. Avaliação do efeito do óleo essencial *Cymbopogon nardus* e na coloração dos fungos *Aspergillus sp*, *Colletotrichum musae* cultivado de cultura Batata Dextrose Agar (BDA). Sendo, (A, B) desenvolvimento dos fungos *Colletotrichum musae* e *Aspergillus sp* na ausência de óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (C, D) desenvolvimento dos fungos *Colletotrichum musae* e *Aspergillus sp* na presença do óleo essencial *C. nardus*.

Atividade “*in vitro*” dos óleos essenciais e do composto majoritário citronelal no fungo *Aspergillus sp* demonstra que a concentração de inibição (CI<sub>50</sub>) no período de seis dias foi de 0,766 ul/cm<sup>2</sup> com intervalo de confiança (0,470-0,824 ul/cm<sup>2</sup>) para óleo de *E. citriodora*, 0,688 ul/cm<sup>2</sup> com intervalo de confiança (0,583-0,948 ul/cm<sup>2</sup>) para o óleo de *C. nardus* e 0,310 ul/cm<sup>2</sup> com intervalo de confiança (0,230-0,375 ul/cm<sup>2</sup>) para o composto majoritário citronelal (Tabela 2). A CI<sub>50</sub> no período de dez dias foi de 1,166 ul/cm<sup>2</sup> para óleo de *E. citriodora*, 1,005 ul/cm<sup>2</sup> para o óleo de *C. nardus* e 0,421 ul/cm<sup>2</sup> para o composto majoritário citronelal (Tabela 2). Os intervalos de confiança dos CI<sub>50</sub> para *Aspergillus sp* não se sobrepuseram aos intervalos de confiança aos óleos essencial de *C. nardus* e *E. citriodora*, ao contrário do que foi observado nos óleos de *E. citriodora* e *C. nardus*, então, o composto majoritário apresentou alta atividade de inibição do fungo *Aspergillus*.

O CI<sub>50</sub> para os fungos de *P. grisea* e *C. musae* foram diferenciados observando maior CI<sub>50</sub> para o fungo de *P. grisea* nos períodos de avaliação nas concentrações de (0,47; 0,63; 0,94; 1,26 e 1,57 µL/cm<sup>2</sup>) para óleos de *E. citriodora* e *C. nardus* e para o composto majoritário citronelal a concentração de (0,23; 0,31; 0,47; 0,63 e 0,79 µL/cm<sup>2</sup>), verifica-se que o valores de CI<sub>50</sub> está diretamente relacionado com a concentração do óleo essencial, observa-se quanto maior concentração maior a inibição micelial. Entre os fungos verifica que o *C. musae* foi altamente sensíveis aos óleos submetidos, principalemtno no período de seis dias (Tabela 2).

O CI<sub>50</sub> de *P. grisea* determinado para os intervalos de tempo de 14 e 21 dias após a inoculação. Aos 14 dias após inoculação o CI<sub>50</sub> do óleo de *E. citriodora* foi 0,56 µL/cm<sup>2</sup> *C. nardus* 0,55 µL/cm<sup>2</sup> e do composto majoritário citronelal de 0,06 µL/cm<sup>2</sup> com alto poder de inibição. Enquanto para os 21 dias o CI<sub>50</sub> *E. citriodora* foi 0,699 µL/cm<sup>2</sup> *C. nardus* 0,669 µL/cm<sup>2</sup> e citronelal 0,82 µL/cm<sup>2</sup> (Tabela 2). De acordo com as análises de regressão linear ( $\hat{Y}=\beta_0 + \beta_1x$ ), os CI<sub>50</sub> para o óleo de *C. nardus* e *E. citriodora* (0,47; 0,63; 0,94; 1,26 e 1,57 µL/cm<sup>2</sup>µL/cm<sup>2</sup>) e do composto majoritário (0,23; 0,31; 0,47; 0,63 e 0,79 µL/cm<sup>2</sup>), observa-se variaram em função da concentração do óleo e tempo de inoculação do fungo (DAÍ). A maior concentração de IC<sub>50</sub> para o fungos de *Aspergillus* com 1,166 µL/cm<sup>2</sup> para o óleo de *E. citriodora* após 10 dias de inoculação na placa de (Tabela 3).

Tabela 1. Análise do CI<sub>50</sub> (Concentração de Inibição de 50% do crescimento micelial dos fungos) para os fungos *Aspergillus* sp, *Colletotrichum musae* e *Pyricularia grisea*.

Fungos	Óleos essenciais	DAI	Inclinação±(EPM)	CI <sub>50</sub> µL/cm <sup>2</sup>	IC (CI <sub>50</sub> )	X <sup>2</sup>	P
<i>Aspergillus</i> sp	<i>E. citriodora</i>	6	-3,763±1,178	0,766	0,470±0,824	1,388	0,463
	<i>C. nardus</i>		-3,848±1,140	0,668	0,583±0,948	0,134	0,045
	citronelal		-4,474±1,284	0,310	0,230±0,375	0,650	0,217
	<i>E. citriodora</i>	10	-4,614±1,375	1,166	0,971±1,505	0,975	0,325
	<i>C. nardus</i>		-3,200±1,108	1,005	0,777±1,408	0,634	0,211
	citronelal		-4,740±1,211	0,421	0,344±0,505	0,343	0,114
<i>Colletotrichum musae</i>	<i>E. citriodora</i>	6	-3,471± 1,060	0,296	0,219±0,462	0,880	0,830
	<i>C. nardus</i>		-3,044± 0,944	0,107	0,152±0,0447	1,375	0,711
	citronelal		-----	-----	-----	-----	-----
	<i>E. citriodora</i>	10	-2,393±0,869	0,313	0,210±0,789	0,566	0,904
	<i>C. nardus</i>		-3,281±0,941	0,125	0,067±0,172	1,763	0,622
	citronelal		-6,334±1,733	0,106	0,139±0,227	2,763	0,4295
<i>Pyricularia grisea</i>	<i>E. citriodora</i>	14	-3,818±1,279	0,560	0,335±0,690	0,664	0,221
	<i>C. nardus</i>		-3,566±1,226	0,558	0,338±0,717	1,398	0,466
	citronelal		-2,927±1,296	0,063	0,001±0,095	1,568	0,456
	<i>E. citriodora</i>	21	-3,063±1,094	0,699	0,419±0,869	0,078	0,026
	<i>C. nardus</i>		-3,581± 1,127	0,669	0,525±0,909	0,118	0,039
	citronelal		-3,907±1,422	0,320	0,212±0,433	1,503	0,751

DAI= Dias após inoculação; CI<sub>50</sub>= Concentração de Inibição de 50% do crescimento do micélio do fungo; EPM=Erro Padrão da Média; IC= Intervalo de Confiança; X<sup>2</sup>= Teste Q quadrado; P= Probabilidade ao nível de 5%.

Tabela 2. Estimativa dos coeficientes da equação  $\hat{Y}=\beta_0 + \beta_1x$  para prever a concentração de inibição ( $CI_{50}$ ) dos fungos *Aspergillus* sp, *Colletotrichum musae* e *Pyricularia grisea* para os óleos de *E. citriodora* e *C. nardus* mais o composto majoritário citronelal

Fungos	Óleos essenciais	Concentração ( $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ )	Parâmetros estimados					
			$\beta_0(\pm\text{EPM})$	$\beta_1(\pm\text{EPM})$	GL	F <sub>calc</sub>	P	r <sup>2</sup>
Aspergillus	<i>E. citriodora</i>	0,47	2,16 ± 0,74	0,63 ± 0,09	3	43,83	0,0027	0,95
		0,63	0,84 ± 0,75	0,75 ± 0,09	3	59,28	0,0015	0,96
		0,94	-0,11 ± 0,53	0,57 ± 0,06	3	69,59	0,0011	0,97
		1,26	-0,85 ± 0,40	0,42 ± 0,05	3	66,27	0,0012	0,97
		1,57	-1,59 ± 0,55	0,45 ± 0,07	3	41,08	0,0030	0,95
	<i>C. nardus</i>	0,47	2,16 ± 1,12	0,58 ± 0,14	3	16,33	0,0156	0,89
		0,63	1,92 ± 0,69	0,46 ± 0,08	3	27,22	0,0064	0,93
		0,94	-0,10 ± 0,40	0,46 ± 0,05	3	81,08	0,0008	0,97
		1,26	-0,54 ± 0,27	0,38 ± 0,03	3	119,45	0,0004	0,98
		1,57	-0,69 ± 0,19	0,24 ± 0,02	3	99,87	0,0006	0,98
	Citronelal	0,23	2,16 ± 0,50	0,61 ± 0,06	3	89,07	0,0007	0,97
		0,31	1,97 ± 0,31	0,50 ± 0,04	3	151,76	0,0002	0,98
		0,47	-0,15 ± 0,22	0,30 ± 0,02	3	117,15	0,0004	0,98
		0,63	-0,19 ± 0,16	0,18 ± 0,02	3	76,15	0,0009	0,97
		0,79	-0,22 ± 0,08	0,15 ± 0,01	3	180,62	0,0002	0,98
<i>Colletotrichum musae</i>	<i>E. citriodora</i>	0,07	1,41 ± 3,16	2,25 ± 1,22	3	3,36	0,3100	0,87
		0,15	2,30 ± 2,48	1,36 ± 0,66	3	4,24	0,1700	0,82
		0,23	3,12 ± 1,32	0,60 ± 0,18	3	10,76	0,0200	0,82
		0,31	1,21 ± 0,52	0,50 ± 0,07	3	47,80	0,0010	0,95
		0,47	0,92 ± 0,40	0,33 ± 0,05	3	36,82	0,0018	0,93
	<i>C. nardus</i>	0,07	1,67 ± 0,81	0,55 ± 0,11	3	23,78	0,0046	0,90
		0,15	1,25 ± 0,54	0,49 ± 0,07	3	43,51	0,0012	0,94
		0,23	0,60 ± 0,47	0,30 ± 0,06	3	21,88	0,0054	0,90
	citronelal	0,23	0,75 ± 0,48	0,73 ± 0,06	3	118,26	0,0001	0,97
		0,31	-0,74 ± 0,61	0,25 ± 0,08	3	8,95	0,0304	0,80
<i>Pyricularia grisea</i>	<i>E. citriodora</i>	0,47	2,16 ± 0,74	0,18 ± 0,02	3	43,83	0,0027	0,96
		0,63	0,84 ± 0,75	0,21 ± 0,02	3	59,28	0,0015	0,97
		0,94	-1,11 ± 0,53	0,16 ± 0,01	3	69,59	0,0011	0,97
		1,26	-1,43 ± 0,45	0,11 ± 0,01	3	51,44	0,0020	0,96
		1,57	-1,59 ± 0,55	0,12 ± 0,02	3	41,08	0,0030	0,95
	<i>C. nardus</i>	0,47	2,16 ± 1,12	0,16 ± 0,04	3	16,33	0,0156	0,90
		0,63	1,92 ± 0,69	0,13 ± 0,02	3	27,22	0,0064	0,93
		0,94	-0,10 ± 0,40	0,13 ± 0,01	3	81,08	0,0008	0,97
		1,26	-0,54 ± 0,27	0,10 ± 0,01	3	119,45	0,0004	0,98
		1,57	-0,69 ± 0,19	0,07 ± 0,00	3	99,87	0,0006	0,98
	citronelal	0,10	2,08 ± 0,38	0,12 ± 0,01	3	59,52	0,0045	0,97
		0,13	-0,10 ± 0,99	0,15 ± 0,04	3	13,44	0,0351	0,90
		0,15	-0,80 ± 0,54	0,14 ± 0,02	3	37,50	0,0088	0,96
		0,19	-0,90 ± 0,38	0,08 ± 0,01	3	27,00	0,0130	0,94

$\hat{Y}=\beta_0 + \beta_1X$ ,  $\beta_0$  e  $\beta_1$  coeficiente da equação; EPM= erro padrão da média; GL<sub>erro</sub> = Grau de liberdade; F<sub>calc</sub>=Fcalculado; P=probabilidade e r<sup>2</sup> coeficiente de determinação

Foram determinadas as concentrações de inibição (CI<sub>50</sub>) para os fungos *Aspergillus sp*, *C. musae* e *P.grisea* sobre ação de volatilização dos óleos essenciais de *C.nardus* e *E. citriodora* nas concentrações de 0,023, 0,093, 0,117 e 0,140 µL/ml e do composto majoritário citronelal 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 µL/ml (Tabela 4). A CI<sub>50</sub> para *P. grisea* foi de 0,100 µl/mL dos óleos essencial de *E. citriodora* e *C. nardus* e do composto majoritário citronelal na concentração 0,005 µl/mL. CI<sub>50</sub> sobre o fungo *C. musae* aos 14 foi 0,88 µL/ml do *E. Citriodora*, *C. nardus* 0,88 µL/ml e do composto majoritário citronelal de 0,44 µL/ml. Aos 21 DAI o CI<sub>50</sub> de *E. citriodora* foi 1,13 µL/ml *C. nardu* 1,00 µL/ml e citronelal 0,75 µL/ml. Para *Aspergillus sp* na avaliação de 6 DAI o CI<sub>50</sub> *E. citriodora* foi 1,82 µL/ml *C. nardus* 0,94 µL/ml e citronelal 0,69 µL/ml para os 10 DAI o *E. citriodora* 2,83 µL/ml *C. nardus* 2,14 µL/ml e o citronelal 4,22 µL/ml.

Os menores valores de CI<sub>50</sub> em contato direto ou por fumigação foram observados no fungo *C. musae*. Em termos gerais, todo o experimento mostrou que os valores de CI<sub>50</sub> de *C. musae* dependendo da concentração foram até oito vezes a concentrações utilizadas para os fungos *Aspergillus* e *P. grisea* óleos. Estes resultados podem ser visualizados na Tabela 3. De acordo com as análises de regressão linear ( $\hat{Y}=\beta_0 + \beta_1x$ ), os CI<sub>50</sub> do óleo de *C. nardus* e *E. citriodora* (0,023; 0,093; 0,117 e 0,140 µL/ml) e do composto majoritário citronelal (0,07; 0,011; 0,017 e 0,023 µL/ml). Observa-se, na Tabela 2 variação da concentração em função do óleo e do tempo de inoculação dos fungos. A maior CI<sub>50</sub> para *Aspergillus* com 0,049 µL/ml; e menor CI<sub>50</sub> para o óleo de *C. nardus* com 0,011 µL/ml após 6 dias de inoculação na placa de petri (Tabela 3). As equações de regressões obtidas apresentaram coeficientes de determinação com valores bastante diferenciados (Tabela 5). No contexto geral da técnica de contato houve diferença significativa entre os cinco e dez dias, no entanto optou-se por apresentar as equações de cada dia, para melhor entendimento e visualização do processo.

Tabela 3. Análise do CI<sub>50</sub> (Concentração de Inibição de 50% do crescimento micelial dos fungos) por fumigação dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* e do composto majoritário citronelal para os fungos *Aspergillus* sp, *Colletotrichum musae* e *Pyricularia grisea*.

Fungos	Óleos essenciais	DAI	Inclinação±(EPM)	CI <sub>50</sub> µL/ml	IC (CI <sub>50</sub> )	X <sup>2</sup>	P	
<i>Aspergillus</i> sp	<i>E. citriodora</i>	6	-4,652 ± 1,256	0,021	0,016 - 0,025	1,717	0,429	
	<i>C. nardus</i>		-2,697 ± 0,820	0,011	0,005 - 0,014	3,944	0,986	
	Citronelal		-3,581 ± -1,903	0,008	0,000 - 0,012	0,325	0,568	
	<i>Aspergillus</i> sp	<i>E. citriodora</i>	10	-4,723 ± 1,449	0,033	0,028 - 0,042	0,225	0,056
		<i>C. nardus</i>		-3,093 ± 0,896	0,025	0,020 - 0,033	1,960	0,490
		Citronelal		-48,35 ± 8,272	0,049	0,042 - 0,057	0,284	0,867
<i>Colletotrichum musae</i>	<i>E. citriodora</i>	6	-13,882 ± 4,780	0,074	0,124 - 0,023	2,214	0,529	
	<i>C. nardus</i>		-----	-----	-----	-----	-----	
	Citronelal		-----	-----	-----	-----	-----	
	<i>Colletotrichum musae</i>	<i>E. citriodora</i>	10	-5,777 ± 2,068	0,090	0,112 - 0,048	1,909	0,591
		<i>C. nardus</i>		-----	-----	-----	-----	-----
		Citronelal		-----	-----	-----	-----	-----
<i>Pyricularia grisea</i>	<i>E. citriodora</i>	14	-3,128 ± 1,039	0,010	0,006 - 0,014	1,55	0,010	
	<i>C. nardus</i>		-3,842 ± 1,362	0,010	0,006 - 0,012	1,99	0,020	
	Citronelal		-2,068 ± 1,251	0,005	0,000 - 0,011	0,06	0,960	
	<i>Pyricularia grisea</i>	<i>E. citriodora</i>	21	-3,346 ± 1,030	0,013	0,009 - 0,016	2,52	0,843
		<i>C. nardus</i>		-4,715 ± 1,431	0,011	0,008 - 0,014	1,66	0,831
		Citronelal		-2,098 ± 0,956	0,008	0,004 - 0,018	0,02	0,989

DAI= Dias após inoculação; CI<sub>50</sub>= Concentração de Inibição de 50% do crescimento do micélio do fungo; EPM=Erro Padrão da Média; IC= Intervalo de Confiança; X<sup>2</sup>= Teste Q quadrado; P= Probabilidade ao nível de 5%

Tabela 4 Estimativa dos coeficientes da equação  $\hat{Y}=\beta_0 + \beta_1x$  para prever a concentração de inibição ( $CI_{50}$ ) dos fungos *Aspergillus sp*, *Colletotrichum musae* e *Pyricularia grisea* para os óleos de *E. citriodora* e *C. nardus* mais o composto majoritário citronelal

Fungos	Óleos essenciais	Concentração ( $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ )	Parâmetros estimados					
			$\beta_0(\pm\text{EPM})$	$\beta_1(\pm\text{EPM})$	GL	F <sub>calc</sub>	P	r <sup>2</sup>
<i>Aspergillus sp</i>	<i>E. citriodora</i>	0,023	8,25 ± 0,35	0,11 ± 0,06	3	3,00	0,2250	0,77
		0,047	0,68 ± 0,31	0,99 ± 0,05	3	292,38	0,0030	0,99
		0,070	0,81 ± 0,60	0,86 ± 0,11	3	61,24	0,0150	0,98
		0,111	-0,97 ± 0,83	1,08 ± 0,15	3	50,02	0,0190	0,98
	<i>C. nardus</i>	0,023	1,75 ± 0,32	0,71 ± 0,05	3	141,26	0,0070	0,99
		0,047	1,22 ± 0,46	0,75 ± 0,08	3	81,06	0,0120	0,98
		0,058	0,75 ± 0,86	0,75 ± 0,15	3	22,92	0,0410	0,95
		0,116	-1,00 ± 0,21	0,56 ± 0,03	3	202,50	0,0040	0,99
	Citronelal	0,011	2,16 ± 0,50	0,61 ± 0,06	3	88,93	0,0007	0,97
		0,023	1,97 ± 0,31	0,50 ± 0,04	3	151,76	0,0002	0,98
		0,038	0,37 ± 0,11	0,23 ± 0,01	3	242,25	0,0001	0,99
		0,058	-0,10 ± 0,20	0,17 ± 0,02	3	46,59	0,0024	0,95
<i>Colletotrichum musae</i>	<i>E. citriodora</i>	0,023	9,00	0,00	3	-----	-----	1,00
		0,058	1,38 ± 0,69	0,55 ± 0,08	3	38,62	0,0034	0,95
		0,117	0,80 ± 0,22	0,43 ± 0,02	3	223,30	0,0001	0,99
		0,176	----	----	3	----	----	----
	<i>C. nardus</i>	0,023	7,90 ± 0,36	0,11 ± 0,04	3	6,02	0,0700	0,77
		0,058	----	----	3	----	----	----
	Citronelal	0,023	3,13 ± 0,26	0,20 ± 0,03	3	36,43	0,0030	0,9492
		0,047	----	----	3	----	----	----
		0,070	----	----	3	----	----	
<i>Pyricularia grisea</i>	<i>E. citriodora</i>	0,006	2,20±1,32	0,19 ± 0,06	3	7,63	0,1090	0,89
		0,011	0,85±0,60	0,18 ± 0,03	3	35,23	0,0270	0,97
		0,017	0,80±0,53	0,15 ± 0,02	3	29,89	0,0310	0,96
		0,023	9,7E-11±0,24	0,16 ± 0,01	3	176,33	0,0050	0,99
	<i>C. nardus</i>	0,006	2,00 ± 1,18	0,17 ± 0,06	3	8,33	0,1020	0,89
		0,011	1,35 ± 0,76	0,17 ± 0,03	3	19,13	0,0480	0,95
		0,017	1,94E-9 ± 0,47	0,18 ± 0,02	3	56,33	0,0170	0,98
		0,023	-0,50 ± 0,47	0,18 ± 0,02	3	56,33	0,0170	0,98
	Citronelal	0,006	1,75 ± 0,58	0,15 ± 0,03	3	26,88	0,0350	0,96
		0,011	0,75 ± 0,58	0,15 ± 0,03	3	26,88	0,0350	0,96
		0,017	0,05 ± 0,34	0,14 ± 0,01	3	66,76	0,0140	0,98
		0,023	-1,00 ± 0,23	0,16 ± 0,01	3	176,33	0,0056	0,99

$\hat{Y}=\beta_0 + \beta_1X$ ,  $\beta_0$  e  $\beta_1$  coeficiente da equação; EPM= erro padrão da media; GL<sub>erro</sub> = Grau de liberdade; F<sub>calc</sub>=Fcalculado; P=probabilidade; e r<sup>2</sup> coeficiente de determinação

O índice de crescimento micelial (ICM) do fungo *Aspergillus* sobre o efeito dos óleos essenciais nas concentrações de (0,47, 0,63, 0,95, 1,26 e 1,58  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ), com ICM médio das concentrações do óleo de *E. citriodora* foi de 3,56, 2,59, 0,58, 0,39 e 0,34 cm/dias. Enquanto, no óleo de *C. nardus* houve um crescimento médio de 2,84, 2,60, 1,11, 0,66 e 0,18 cm/dia e no composto majoritário citronelal nas concentrações de (0,23, 0,31, 0,47, 0,63 e 0,79  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) o ICM foi de 3,43, 3,01, 0,58, 0,34 e 0,25 cm/dia, na testemunha o ICM foi igual a 7,5 cm/dia (Figura 4A). O ICM do fungo *P. grisea* em contato com óleos essenciais nas concentrações (0,47, 0,63, 0,95, 1,26 e 1,58  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ), o ICM na concentração do óleo de *E. citriodora* foi de 0,84, 0,75, 0,19, e 0,05 cm/dia, diferenciando o ICM do óleo de *C. nardus* (1,01, 0,77, 0,13, 0,12 e 0,08 cm/dia, respectivamente) no composto majoritário citronelal na concentração de (0,23, 0,31, 0,47, 0,63 e 0,79  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ). Observa-se que o óleo *C. nardus* influenciou diretamente no ICM de *P. grisea* (Figura 4B). Para Índice de crescimento micelial do fungo *C. musae* o efeito dos óleos de eucalito e *C. nardus* nas concentrações (0,07, 0,15, 0,23, 0,31 e 0,47  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ), com ICM de (7,37; 7,06; 4,25; 3,56; 2,06 cm/dia, respectivamente) e *C. nardus* (4,09; 2,90; 1,75; 0,00; 0,00 cm/dia, respectivamente). Enquanto, as concentrações de citronelal (0,03, 0,06, 0,12, 0,15  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) apresentaram o ICM de (3,00, 0,27, 0,00, 0,00, 0,00 cm/dia, respectivamente), sendo a testemunha 7,5 cm/dia Figura 1C.



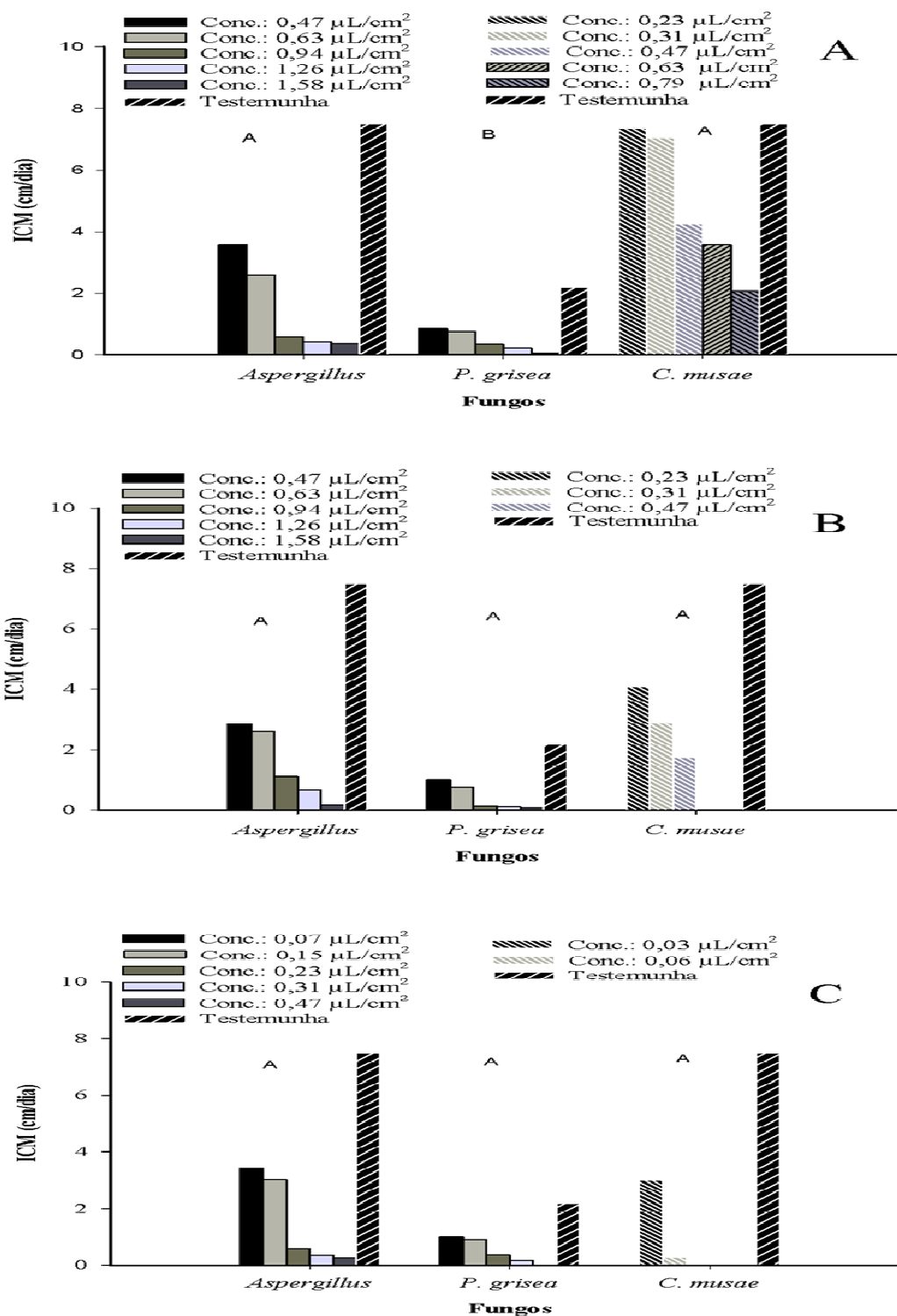


Figura 4. Avaliação do índice crescimento micelial (ICM) para os fungos *Aspergillus*, *P. grisea* e *C. musae*. Sendo (A) crescimento micelial dos fungos *Aspergillus*, *P. grisea* e *C. musae* em diferentes concentrações de *E. citriodora*. (B) crescimento micelial dos fungos *Aspergillus*, *P. grisea* e *C. musae* em diferentes concentrações de *C. nardus* e (C) crescimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp., *P. grisea* e *C. musae* em diferentes concentrações de citronelal.

#### 4. DISCUSSÃO

A composição do óleo essencial e tempos de retenção estão expostos na Tabela 1. Estes óleos essenciais são citados como possuidor de mais de 80 substâncias, a partir do qual citronelal, citronelol, geraniol, limoneno e ésteres têm particular importância (MAIA et al., 1998; MARCO et al., 2007). Como mostra a tabela 2, a análise cromatografia gasosa – espectrometria de massa (CG-EM) resultou na identificação de 14 constituintes. Entre os constituintes, o citronelal se apresentou como o componente majoritário principal dos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus* com 61,78% e 36,6 % respectivamente do total de constituintes presentes. Estes resultados confirmam os encontrados por outros pesquisadores em relatos anteriores, onde é registrado que citronelal e geraniol são os principais constituintes do óleo essencial de *C. nardus* e até mesmo de outras plantas (SIMIC et al., 2008). Os componentes citronelal, geraniol e citronelol pertencem a um grupo de compostos constituintes de óleos essenciais definidos como terpenóides. Esse termo designa os compostos que são derivados de unidades do isopreno que, por sua vez, origina-se biossinteticamente do ácido mevalônico. Os esqueletos carbonados dos terpenoides são formados pela condensação de unidades de isopreno e, dessa maneira, esses constituintes são classificados como monoterpenos acíclicos, com base nas suas estruturas químicas (SIMÕES; SPITZER, 2007).

Todos os óleos mais o composto majoritário citronelal tiveram atividade no crescimento micelial por contato direto e por fumigação para fungos (Tabela 2 e Tabela 4) e em todas as concentrações os óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus* o composto majoritário citronelal inibiram o crescimento micelial 100%. Os resultados da atividade fungitóxica dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* estão condizentes com os diversos efeitos biológicos de óleos essenciais relatados na literatura. Os principais constituintes do óleo essencial utilizado, tais como, citronelal, geraniol, elemol,  $\beta$ -citronelol, isopulegol, têm atividades antifúngicas comprovadas para diversas espécies de fungos (MARCO et al., 2007). A  $CI_{50}$  de *Aspergillus* foi fortemente inibindo pelo composto citronelal com a concentração de (0,31  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) aos 6 DAI e (0,42  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ ) aos 10 DAI seguido dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* (Tabela 2). Os efeitos de inibição do crescimento micelial de vários fungos em bioensaios *in vitro* com óleo essencial de *E. citriodora* e seus compostos majoritários já foram demonstrados, com variação na concentração de inibição (FIORI, 2000), segundo Ramenzani et al. (2002) relataram a inibição do crescimento de seis espécies de fungos fitopatogênicos por óleo essencial de espécies de *Eucalyptus* e pelo

monoterpeno citronelal, principal constituinte do óleo de *E. citriodora* (SU et al., 2006).

O CI<sub>50</sub> do constituinte citronelal para os fungos foi o que teve menores valores seguidos do óleo de *C. nardus* e *E. citriodora*. Ao contrário foi observado CI<sub>50</sub> aos 10 DAI o óleo de *E. citriodora* apresentou maior CI<sub>50</sub>, seguido de *C. nardus* e com menor efeito foi o citronelal O ICM (Índice de crescimento Micelial) para *Aspergillus* e *C. musae* apresentaram maiores crescimento micelial, seguido do de *P. grisea*, com diferença significativa entre as concentrações sobre os óleos e dos respectivos fungos. Para o fungo da *P. grisea* demonstrou inibição do crescimento micelial por todos os óleos sobressaindo o óleo de *C. nardus* seguido pelo composto majoritário Citronelal (Tabela 3 e 5). Resultados semelhantes mostram efeito dos terpenoides sobre fungos fitopatogenicos *Phytophthora infestans* (HAMMER et al., 2002; VELLUTI et al., 2003, 2004; PAWAR and THAKER, 2006; SOYLU et al., 2006), e na inibição micelial *in vitro* do fungo *Monilinia fructicola*, observou que o óleo essencial de *C. nardus* apresentou potencial para controle da doença nas concentrações de 20%, superior ao óleo de *E. citriodora* (SOUZA et. al., 2005). Sobre os fungos *C. musae* e *C. gloeosporioides*, com inibição em 100% do crescimento micelial na concentração de 1000µL/L a 1500µL/L (MOLEYAR; NARASIMHAM, 2004).

Os óleos essências de *E. citriodora* e *C. nardus* e o composto majoritário Citronelal apresentaram efeito de fumigação nos fungos *Aspergillus*, *P. grisea* e *C. musae*, inibindo fortemente o crescimento micelial. Com maior efeito de fumigação no composto citronelal, com mais atividade que os óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus*. Resultados semelhantes foram verificados com óleos de *C. nardus* comparando com outros óleos essenciais como eucalipto citriodora (SOUZA et. al., 2005). Com relação ao efeito dos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus* foram verificadas “*in vitro*” inibição do crescimento do fungo *Monilinia fructicola*, comparativamente a atividade do óleo de *C. nardus* foi superior ao óleo de *E. citriodora* para controle da podridão parda em pessegueiro. No entanto, a alta atividade fungistática dos óleos essenciais de *C. nardus* deve está associado ao efeito sinérgico com outros compostos presentes no óleo entre eles geraniol com atividade fungioestática superior ao outros compostos citronelol em cepa de *Trichophyton mentagrophytes* (SHIM & LIM, 2004),

A atividade dos óleos essencial de *C. nardus* e *E. citriodora* pode aos componentes majoritários como o citronelal, geraniol e citronelol pertencem a um dos grupos de constituintes comumente presentes em óleos essenciais (terpenos) que, de acordo com a literatura, agem principalmente contra a membrana citoplasmática dos microorganismos (KNOBLOCH et al., 1989; SIKKEMA et al, 1995; DI PASQUA et al., 2007). Isto é

justificado pelo caráter lipofílico destes compostos, sugerindo sua interação com membranas dos microrganismos. E de fato, a hidrofobicidade dessas moléculas as possibilita se particionarem nas membranas celulares dos fungos, alterando suas funções e as deixando mais permeáveis (BURT, 2004). Sendo assim, o efeito como perturbação da membrana citoplasmática, ruptura do fluxo de elétrons, alteração no transporte de moléculas através da membrana, inibição de atividade de certas enzimas e coagulação do conteúdo citoplasmático são alguns mecanismos envolvidos na promoção do poder antimicrobiano dos óleos essenciais descritos na literatura (SIKKEMA et al., 1995; COX, 2000). A estrutura e função da membrana plasmática na célula fúngica é essencial para a sobrevivência do fungo, visto que a ocorrência de alterações na síntese ou manutenção da membrana celular resulta geralmente em letalidade (GOMPertz et al., 2000). Alguns autores colocam que pode ser consequência da interferência na biossíntese de ergosterol ou uma interação direta com o ergosterol, na alteração do perfil dos ácidos graxos da membrana plasmática, na função da H<sup>+</sup>/ATPase presentes na membrana plasmática, no efluxo de K<sup>+</sup> pela membrana, entre outros fatores (HAWORTH et al., 1993; ARTHINGTON-SKAGGS, et al., 1999; LUNDE; KUBO, 2000; BORELI et al., 2008).

Essas informações colocam estes alvos como promissores na busca racional de novos produtos com atividade antifúngica, os quais interfiram de alguma maneira com o desenvolvimento dos fungos de *Aspergillus sp*, *P. grisea* e *C. musea* e outros efeitos associados no crescimento micelial. E dessa forma, é sugestivo que as pesquisas com o óleo essencial de *C. nardus* e *E. citriodora* sejam aprofundadas com o objetivo verificar seu efeito de sinergismos e antagonismo entre seus constituintes a fim de tentar esclarecer o melhor modo de ação antifúngica em fungos fitopatogênicos.

## 5. CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- Os óleos essenciais e o composto citronelal tem potencial antifúngico e diminui a velocidade de crescimento sobre os fungos *Aspergillus sp*, *P. grisea* e *C. musae*.
- O óleo essencial de *C. nardus* e *E. citriodora* e do composto majoritário citronelal apresenta alta atividade de fumigação sobre o desenvolvimento micelial de *Aspergillus sp*, *P. grisea* e *C. musae*;

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAYASEKARA, C.; RATNAYAKE, S.; ADIKARAM, N.K.B. Resistance of banana fruit to fungal disease in overview. In: JONSON, G.J.; HIGHLEY, E.; JOYCE, D.C. (Eds.). **Disease Resistance in Fruit**, n.80, p.93-104, 1998.

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gás chromatography/ mass spectrometry. **Allured Publishing Corporation. Carol Stream**, p.804, 2007.

ALMEIDA, R. V. D.; CASTRO, R. D.; PEREIRA, M. S. V.; PAULO, M. Q.; SANTOS, J. P.; PADILHA, W. W. N. Efeito Clínico de Solução Anti-Séptica a Base de Própolis em Crianças Cárie Ativas. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.6, n.1, p.87-92, jan./abr. 2006.

ARRUDA, T.A.; ANTUNES, R.M.P.; CATÃO, R.M.R.; LIMA, E.O.; SOUSA, D.P.; NUNES, X.P.; PEREIRA, M.S.V.; BARBOSA-FILHO, J.M.; CUNHA, E.V.L. Preliminary study of the antimicrobial activity of *Mentha x villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and its analogues. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.16, p.307-311, 2006.

ARTHINGTON-SKAGGS, B. A.; WARNOCK, D. W.; MORRISON, C. J. Quantitation of *Candida albicans* ergosterol content improves the correlation between in vitro antifungal susceptibility test results and in vivo outcome after fluconazole treatment in murine model of invasive candidiasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.44, n.8, p.2081-2085, 1999.

ARX, J.A.V. The Genera of Fungi Sporulating in pure culture. 2 ed. Vaduz: **Journal. Cramer**, p.351, 1974.

BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. **Third Edition, Burgess Publishing Company, Minneapolis**, v.24, p.1, 1972.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application sin foods. **Review**, 2004.

BORELI, C.; SCHALLER, M.; NIEWERTH, M.; NOCKER, K.; BAASNER, B. Modes of action of the new arylguanidine abafungin beyond Interference with ergosterol biosynthesis and in vitro activity against medically important fungi. **Chemotherapy**, v.54, n.4, p.245-259, 2008.

CASTRO, R. A., MENDES-COSTA, M. C., SOUZA, E. A. Dimorfismo de ascósporos em *Glomerella cingulata f.sp. phaseoli*. **Fitopatologia brasileira**. v.31, n.6, p.598-600, 2006.

COX, S.D.; MANN, C.M.; MARKHAM, J.L.; BELL, H.C.; GUSTAFSON, J.E.; WARMINGTON, J.R.; WYLLIE, S.G., 2000. The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal. Applied. Microbiology**. v.88, p.170–175, 2000.

CLEVENGER, J. F. Apparatus for the determination of volatile oil, **Journal. America. Pharmacology. Association**, v.17, p.346, 1928.

DIAS MARTINS, T.; LAVORENTI, N.A. & URASHIMA, A.S. Comparação entre métodos para avaliação de transmissão de *Magnaporthe grisea* através de sementes em triticales. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.425-428. 2004.

DI PASQUA, R., BETTS, G., HOSKINS, N., EDWARDS, M., ERCOLINI, D., MAURIELLO, G. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. **Journal Agriculture. Food Chemical**. v.55, p.4863–4870, 2007.

DHINGRA, O.D. Prejuízos causados por microorganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.7, n.1, p.139-145, 1985.

FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; VIDA, J. B.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*, **Journal of Phytopathology**, v.148, p.483-487, 2000.

FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; SCHWANESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia*

*camphorata*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.25, p.503-507, 2003.

GOMPERTZ, O. F.; GAMBALE, W.; PAULA, C. R.; CÔRREA, B. **Biologia de fungos**. In: *Microbiologia*. 3<sup>o</sup>ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

HAWORTH, R. S.; CRAGOE, E. J.; FLIEGEL, L. Amiloride and 5-(N-ethyl-Nisopropyl) amiloride inhibit medium acidification and glucose metabolism by the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1145, n.2, p.266–272, 1993.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V.. In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against dermatophytes and other filamentous fungi. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, n.50, p.195-199, 2002.

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C.M. IGARASHI, L.C., KAZUMA, A.H. & LOPES, R.S. *Pyricularia* em trigo. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p.351-352, 1986.

KNBLOCH, K.; PAULI, A; IBERL, B.; WEIGAND, H.; WEIS, N. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. **Journal of essential oil Research**, v.1, n.3, p.119-128, 1989.

LUNDE, C. S.; KUBO, I. Effect of polygodial on the mitochondrial ATPase of *Saccharomyces cerevisiae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.44, n.7, p.1943-1953, 2000.

MARCO, C. A.; INNECCO, R.; MATTOS, S. H.; BORGES, N.S.S.;NAGA, E. O. Características do óleo essencial de capim-citronela em função de espaçamento, altura e época de corte. **Horticultura Brasileira**, v.25, p.429-32, 2007.

MAIA, N. B. Nutrição mineral, desenvolvimento e qualidade do óleo essencial da mentha (*Mentha arvensis* L.) cultivada em solução nutritiva. 1994. 69 f. **Dissertação** (Mestrado) Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1994.

MOLEYAR, M.; NARASIMHAM, P. Antifungal activity of some essential oil components, **Food Microbiology**, v.3, n.4, p.331-336, 2004.



NASCIMENTO, P.F.C.; NASCIMENTO, A.C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, P. O.; BARBOSA JÚNIOR, A. M.; TRINDADE, R. C. ATIVIDADE antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.17, n.1, 2007.

NUNES, X.P.; MAIA, G.L.A.; ALMEIDA, JR.G.S.; PEREIRA, F.O.; LIMA, E.O. Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.16, p.642-644, 2006.

OLIVEIRA, J.A. Efeito de tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum anannum*). **Lavras: ESAL**, p.111, 1991. (Tese-Mestrado em Fitossanidade).

PASTER, N. & BULLERMAN, L.B. Mould spoilage and mycotoxins formation in grains as controlled by physical means. **International Journal of Food Microbiology**, v.7, p.257-265, 1988.

PAWAR, V.C.; THAKER, V.S. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. **Mycoses**. v.49, p.316-323, 2006.

RAMEZANI, H.; SINGH, H.P.; BATISH, D.R.; KOHLI, R.K. Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*. **Fitoterapia**, [S.l.], v.73, p.261-262, 2002.

REHDER, V.L.G.; MACHADO, A.L.M.; DELARMELINA, C.; SARTORATTO, A.; FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum applii* e *Origanum vulgare*. **Revista Brasileira Planta Mediciniais**, v.6, p.67-71, 2004.

SAMSON, R.A. AND PITT, J.I. Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. **Ed Hardwood: Academic Publishers Reading**, p.510, 2000.

SAMSON, R.A. AND VARGA, J. *Aspergillus* systematics in the genomic era. **CBS Fungal Biodiversity Centre**, p.206, 2007.

SANTOS, S.C.; FERREIRA, F.S.; ROSSI-ALVA, J.C.; FERNANDEZ, L.G. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Abarema cochiliocarpos* (Gomes) Barnaby & Grimes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.2, p.215-219. 2007.

SAVELEV, S., OKELLO, E., PERRY, N.S.L., WILKINS, R.M., PERRY, E.K. Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v.75, p.661–668, 2003.

SOYLU, E.M, SOYLU, S, KURT, S. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. **Mycopathologia**, v.161 n.2, p.119-28, 2006.

SOUZA, D.C.; LOURENÇO, S.A.; BASSETTO, E.; AMORIM, L. Progresso temporal da podridão parda do pessegueiro em áreas não tratadas e tratadas com fungicidas. (Resumo) **Summary Phytopathologica**, v.32 (suplemento), p.32, 2005.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). *Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos*. **Piracicaba: FEALQ**, c.5, p.125-138, 2005.

SHIM, S.; LIM, S. Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against *Trichophyton* spp. **Journal of Applied Microbiology**. v.97, n.6, p.1289–1296, 2004.

SIMIC, A.; RANCIC, A.; OKOVIC, M. D.; RISTIC, M.; GRUJIC-JOVANOVIC, S.; VUKOJEVIC, J.; MARIN, P. D. Essential Oil Composition of *Cymbopogon winterianus* and *Carum carvi* and Their Antimicrobial Activities. **Pharmaceutical Biology**. v.46, n.6, p.437-441, 2008.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 6º ed, 2007.

SU, Y.C.; HO, C.I.; WANG, I. C.; CHANG, S. T. Antifungal activities and chemical compositions of essential oils from leaves of four eucalypts. **Journal. of. Science.** v.21, p.49 - 61, 2006.

VELLUTI, A.; MARIN, S.; GONZALEZ, P.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V. Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media. **Food Microbiology**; v.21, p.649-656, Aug. 2004.

VELLUTI, A.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J.; EGIDO, J.; MARÍN, S. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, orégano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Furarium proliferatum* in maize grain. **Food Microbiology**, v.89, p.145-154, Jan. 2003.

VILELA, G.R.; ALMEIDA, G.S.; D\_ ARCE, M.A.B.R.; MORAES, M.H.D.; BRITO, J.O., SILVA, M.F.G.F.; SILVA, S.C. ; PIEDADE, S.M.S.; CALORI - DOMINGUES, M.A.; GLORIA, E.M. Activity of essential oil its major compounds 1,8 - cineole from *Eucalyptus globules*, against the storage fungi *Aspergillus avus* and *Aspergillus parasiticus*. **Journal. of Stored Products Research**, v.45, p.108-111, 2009.

### **CAPITULO III**

#### **AVALIAÇÃO ATIVIDADE HERBITÓXICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus citriodora* E *Cymbopogon nardus* NO CONTROLE E CAPIM COLCHÃO E CAPIM CARRAPICHO**

## RESUMO

Os óleos voláteis têm sido relatados como inibidores potenciais na germinação de sementes e causadores de intoxicação em espécies vegetais, associada à perda de capacidade fotossintética. Objetivou-se neste trabalho avaliar os efeitos dos óleos essenciais obtidos de citronella e eucalyptus e do composto majoritário citronelal sobre capim-colchão (*Digitaria horizontalis*) e capim carrapicho (*Cenchrus echinatus*). Utilizaram-se os óleos essenciais de *C. nardus* e de *E. citriodora* e o composto citronelal nas concentrações de 10 e 20%. A aplicação dos óleos essenciais foi realizada quando as plantas de capim-colchão e capim carrapicho encontravam-se no estágio de quatro folhas. Avaliaram-se a fitointoxicação, altura, massa seca da parte aérea e da raiz das plantas o numero de perfunho. Os óleos de *C. nardus* e *E. citriodora* e o composto citronelal causaram intoxicação em *D. horizontalis* e *C. echinatus* após 12 horas. Observou-se a redução no acúmulo de matéria seca da parte aérea e de raízes, para o numero de perfunho somente teve efeito para o capim carrapicho. Os óleos estudados apresentam potencial bioherbicida para o controle destas plantas daninhas.

**Palavras-chave:** citronelal, bioherbicida, *Digitaria horizontalis*, *Cenchrus echinatus*

## ABSTRACT

### HERBTOXICITY EVALUATION ACTIVITY IN CONTROLLING CRABGRASS AND BURRGRASS WITH THE ESSENTIAL OILS OF *Eucalyptus citriodora* AND *Cymbopogon nardus*

The volatile oils have been reported as seed germination potential inhibitors and as vegetal species Phytotoxicity associated with the loss of photosynthesis capability. It was this work's objective to evaluate the essential oils of *C. nardus* and *E. citriodora* and citronelal's major composite on crab grass (*Digitaria horizontalis*) and burrgrass (*Cenchrus echinatus*). The essential oils of *C. nardus* and of *E. citriodora* and the citronelal composite were used in concentrations of 10 and 20%. The essential oil's application was done when the crabgrass and burrgrass plants were at four leaf stage. Phytotoxicity evaluation, of dry weight of the above ground part of the plant, and the root, and the number of tillers. The Oils of *C. nardus* and eucalyptus, and the citronelal composite caused intoxication in *D. horizontalis* and *C. echinatus* in plants 12 hours (HAT). This had an effect on crabgrass, but mainly it affected burrgrass, by dry weight accumulative reduction on the above-ground-part of the plant, and on the roots; and on the number of tillers. The studied oils present a potential herbicide on controlling these weeds.

**Key-words:** citronelal, bioherbicida, *Digitaria horizontalis*, *Cenchrus echinatus*

## 1. INTRODUÇÃO

Estudos são importantes tendo em conta o ambiente e as preocupações com a saúde humana, vem aumentando a resistência herbicida sintético, portanto, há uma necessidade de procurar novos compostos mais seguro e com capacidade de supressão de plantas daninhas (SINGH et al., 2003; DAYAN et al., 2009). O uso excessivo dos herbicidas atuais disponíveis no mercado tem contaminado do ambiente, além do surgimento de novas plantas resistentes, são problemas reais resultando um crescente interesse em se encontrar alternativas que busque o desenvolvimento de novos compostos, os quais possam assegurar aumento na produtividade agrícola com base na sustentabilidade em longo prazo. Neste sentido, a alelopatia pode ser de grande importância, pois possibilita a identificação de compostos, os quais poderão servir como base para a produção de herbicidas mais específicos e menos prejudiciais ao ambiente quando comparados àqueles em uso atualmente na agricultura. Alelopatia pode ser definida como processo que envolve metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos (ANAYA, 1999)

Os problemas de resistência de plantas daninhas a herbicidas estão relacionados devido ao uso constantes e a falta de novas moléculas para produção de novos herbicidas altamente eficientes e seletivos. Dessa maneira, associado ao cultivo de monoculturas e o incorreto manuseio tem proporcionado a seleção de plantas resistentes aos herbicidas atuais (CARVALHO, 2004). Por isso, nos últimos anos, vem aumentando a necessidade de estudos de novos métodos de controle para plantas daninhas. Principalmente, estudos baseado em mecanismo que envolva os princípios biológicos, fisiológicos e ecológicos com forma de diminuir a contaminação ambiental e a seleção de plantas resistentes (BALBINOT JR et al., 2002). Estudos de herbicidas naturais podem ser aplicados como formulação sem transportadora ou misturados com diferentes volumes de transportadoras na calda. A este respeito, O massa seca de urtiga queima (*Urtica urens* L.) reduziu em 90% com 12-61 L de óleo de cravo / ha, enquanto 21-38 L de óleo de cravo / ha reduziu o massa seca de beldroega comum (*Portulaca oleracea* L.) de biomassa para o mesmo nível (BOYD e BRENNAN, 2006). A eficácia do herbicida variou de acordo com o estágio de crescimento de plantas daninhas e da concentração herbicida na calda (BOYD et al. 2006; SMITH 2004, 2006). Curran (2004) mostraram controle de 99% do caruru (*Amaranthus spp.*) e Velvetleaf (*Abutilon theophrasti Medicus*), com mistura de óleo 23-47% de cravo em um volume de

calda de 281 L / ha ou 12 a 23% mistura de óleo de cravo em um volume de calda de 562 L / ha quando as ervas daninhas foram inferiores a 7,6 centímetros de altura.

Estudos recentes verificaram que atividade do óleo essencial com poder de herbicidas para diferentes espécies de plantas (ENS et al., 2009), apresentando potencialidade de controlar plantas. Contudo, estudos realizados por Clay et al. (2005), com óleo essencial de *C. nardus* verificou atividade fitotóxica para *Fraxinus excelsior* e *Prunus avium*. Sendo observada também a atividade fitotóxica do óleo de *E. citriodora* para *Amaryllis (Hippeastrum hybridum)*, influenciando diretamente sobre o desenvolvimento da planta (EL-ROKIEK & EID, 2009). A atividade fitotoxicidade do óleo essencial está associada diretamente à perda da capacidade fotossintética da planta (BATISH et al., 2004).

Devido a prévios estudos que relata a fitotoxicidade de óleos essencial para plantas daninhas, verifica-se a necessidade de novos estudos relacionados à fitotóxica para diferentes espécies de Erva daninhas presente nas lavouras do estado do Tocantins. Sendo assim, este trabalho tem por objetivo avaliar a atividades do óleo essencial obtidos de *C. nardus* e *E. citriodora* e do composto majoritário citronelal para *Digitaria horizontalis* e *Cenchrus echinatus*. Associado ao potencial de controle e bioprospecção dos óleos como herbicidas alternativos para o controle das referidas espécies.



## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local**

O trabalho foi conduzido na Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Gurupi – as atividades de fitotoxicidade e a extração do óleo essencial foram obtidas no Laboratório Manejo Pragas e bioensaios foram conduzidos na casa de vegetação climatizada presente na estação experimental do Campus Universitário de Gurupi.

### **2.2 Obtenção dos óleos essenciais**

Método de obtenção dos óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. nardus* idem no Capítulo I.

### **2.4. Identificações por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas (CG/EM)**

A análise cromatográfica (CG) dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* foram divididas 3 amostras para cada óleo (CG-EM) dados mostrados idem Capítulo I.

### **2.3. Bioensaios**

Sementes de capim-colchão (*D. horizontalis*) e capim carrapicho (*C. echinatus*) foram semeadas em caixas plásticas com dimensões de 42 x 28 x 12 cm (C x L x A) preenchidas com substrato comercial PLANTMAX<sup>®</sup>. As plântulas no estágio de duas folhas foram transplantadas para vasos de polietileno com capacidade de 0,2 L preenchidos com substrato comercial PLANTMAX<sup>®</sup>. Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados, com seis tratamentos e duas testemunhas em quatro repetições. Os óleos de *C. nardus* (10 e 20 %) e de *E. citriodora* (10 e 20 %) e o composto citronelal (10 e 20 %) foram homogêneos em água destilada com adição de espalhante adesivo Tween 80 (0,03 %). Duas testemunhas foram adicionadas ao ensaio; (1) Tween 80 (0,03 %) em água destilada e (2) apenas água destilada. Quando as plantas encontravam-se no estágio de quatro folhas, realizou-se a aplicação dos tratamentos, com borrifador manual e com cobertura total da parte aérea, evitando-se o escorrimento da calda aplicada.

Avaliou-se a fitointoxicação após 12 e 24 horas da aplicação dos tratamentos com notas de variando de 0 (ausência de sintomas) a 100 % (morte da planta). Aos sete dias após a aplicação dos tratamentos avaliou-se a altura, a massa seca da parte aérea e da raiz. Os dados foram transformados em  $\arcsen (x/100)^{1/2}$  e submetidos à análise de variância. A comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade pelo programa estatístico SAEG.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomas de fitotoxicidade ocasionados pelos óleos essenciais de *C. nardus* e Eucaplito e do composto majoritário citronelal para *Digitaria. horizontalis* e *Cenchrus echinatus* foram observados, após 12 horas da aplicação dos tratamentos (HAT), sendo caracterizados por pontos com aspecto encharcados, sendo características de perda de permeabilidade da membrana, em seguida tornaram-se cloróticos. Tais sintomas foram mais evidenciados em plantas tratadas com citronelal e óleo de *E. citriodora* (Tabela 2), demonstrando que o composto citronelal apresenta efeito herbicida em plantas. Batish et al. (2006) avaliando a toxicidade de óleo essencial de *E. citriodora* sobre plantas, verificaram alta toxicidade de óleo da espécie *E. citriodora* que apresenta o citronelal como principal composto majoritário com cerca 61.78 % (TABELA 1). A severidade e a velocidade do aparecimento dos sintomas foram semelhantes aos provocados pela aplicação de herbicidas inibidores do fotossistema I (Dados não mostrados). Os resultados obtidos podem estar associados à captura de elétrons provenientes da fotossíntese e formação de radicais livres responsáveis pela peroxidação de lipídios, conforme observações realizadas por Silva et al. (2007). Além disso, pela perda do conteúdo da clorofila pela ação de monoterpenes que interfere com maquinaria de fotossintética da plantas (BATISH et al., 2004).

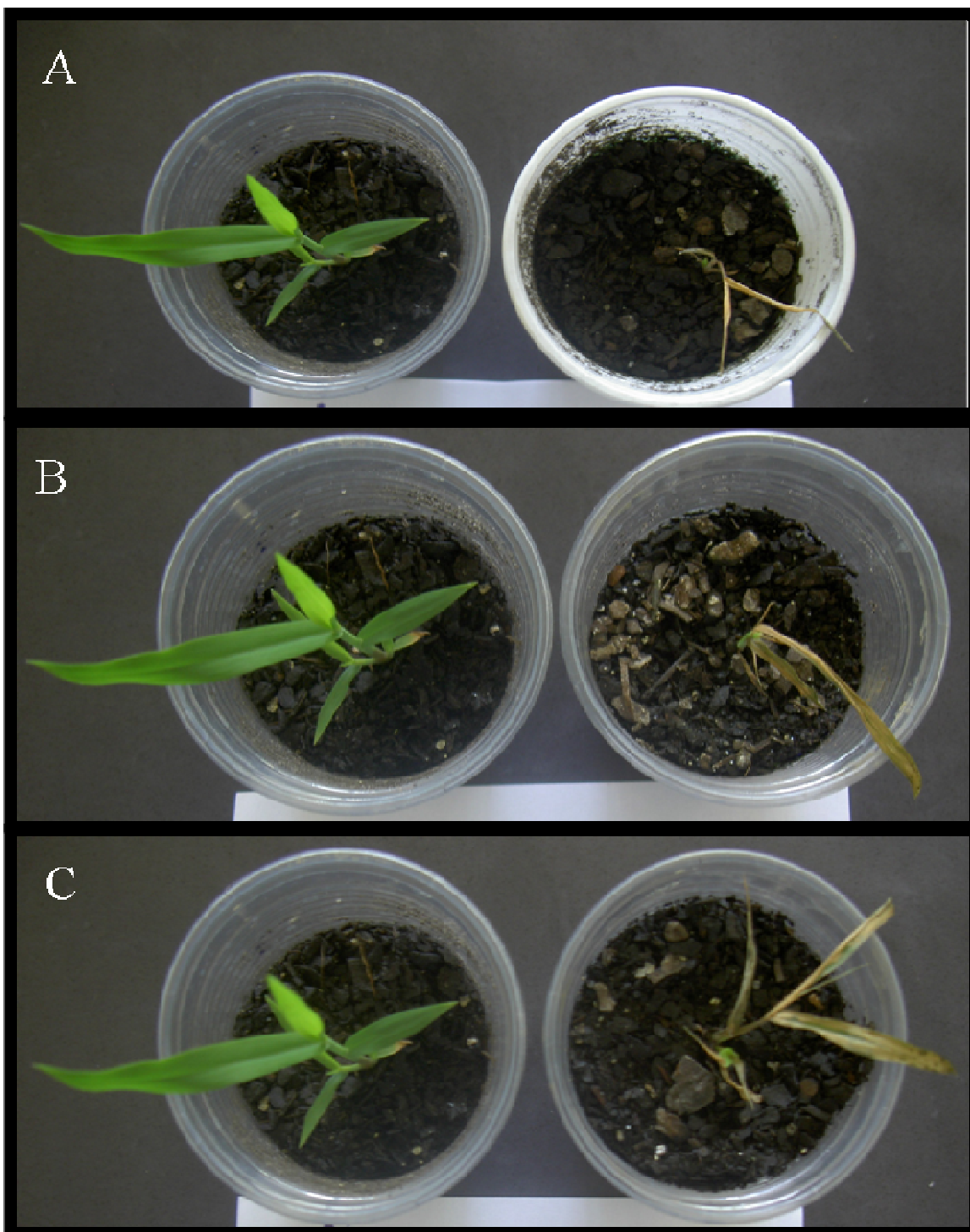


Figura 1. Efeito dos óleos essenciais a 20 % A= *C. nardus*; B= *E. citriodora*; C= Composto citronelal.

A severidade dos sintomas ocasionados pelo óleo de *C. nardus* e *E. citriodora* e citronelal pode está associada à capacidade dos óleos de romper a integridade da membrana, resultando no aumento da permeabilidade da membrana e vazamento de soluto. Dessa forma, o aumento da permeabilidade da membrana ocorre à perda dos processos fisiológicos e bioquímicos de *D. horizontalis* e *C. echinatu*. As observações neste trabalho assemelham com trabalho, onde verificou ação dos constituintes dos óleos essenciais sobre desenvolvimento de planta (SINGH et al., 2005).

Tabela 1. Valores de fitointoxicação (FITO), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR) e número de perfilhos (NPERF) de plantas de capim-colchão

TRATAMENTO	FITO 12 h*	FITO 24 h*	MSPA (g)	MSR (g)	NPERF
Óleo Citronela 10%	0,0483 ab	0,0642 cd	0,0025 bc	0,0025 bc	0,0175
Óleo Citronela 20%	0,0591 a	0,0642 cd	0,0020 c	0,0021 c	0,0162
Citronelal 10%	0,0316 c	0,0547 bc	0,0037 a	0,0042 a	0,0216
Citronelal 20%	0,0360 c	0,0706 a	0,0031 ab	0,0032 b	0,0199
Óleo Eucalipto 10%	0,0340 c	0,0447 c	0,0023 c	0,0025 bc	0,0158
Óleo Eucalipto 20%	0,0384 bc	0,0589 cd	0,0023 c	0,0024 bc	0,0191
Tween 80	0,0000 c	0,0000 d	0,0036 a	0,0045 a	0,0188
Testemunha	0,0000 c	0,0000 d	0,0037 a	0,0043 a	0,0182
C. V. (%)	13,45	9,27	9,75	9,36	19,13

\* = Fitointoxicação avaliada as 12 e 24 horas após a aplicação dos tratamentos.

O aparecimento de sintomas em plantas tratadas com óleo de *C. nardus* as 12 HAT (Tabela 1) pode ser inferido pela menor quantidade do composto majoritário citronelal (36,53%) presente em sua composição (Tabela 2 e 3). No entanto, após 24 HAT, os sintomas de intoxicação foram mais pronunciados em plantas tratadas com óleo de *C. nardus* 10 e 20%. Apesar da menor quantidade de citronelal no óleo de *C. nardus*, outros compostos majoritários presentes podem está aumentando o efeito de sinergismo com o citronelal, aumentando o efeito fitotóxico desse óleo sobre *D. horizontalis* e *C. echinatus*. Sendo evidenciada, também, após 24 HAT, uma maior intoxicação em plantas tratadas com óleo de *E. citriodora* e citronelal, numa concentração de 20%.

Tabela 2. Valores de fitointoxicação (FITO), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR) e número de perfilhos (NPERF) de plantas de capim-carrapicho

TRATAMENTO	FITO 12 h*	FITO 24 h*	MSPA (g)	MSR (g)	NPERF
Óleo Citronela 10%	0,0837 ab	0,0894 a	0,0150 bcd	0,0157 ab	0,0750 ab
Óleo Citronela 20%	0,0960 a	0,0987 a	0,0133 cd	0,0083 bc	0,0000 c
Citronelal 10%	0,0846 ab	0,0891 a	0,0110 d	0,0026 c	0,0750 ab
Citronelal 20%	0,0835 b	0,0893 a	0,0135 cd	0,0037 c	0,0000 c
Óleo Eucalipto 10%	0,0650 c	0,0724 b	0,0185 b	0,0132 ab	0,0750 ab
Óleo Eucalipto 20%	0,0893 ab	0,0947 a	0,0171 bc	0,0096 bc	0,0000 c
Tween 80	0,0000 d	0,0000 c	0,0386 a	0,0144 a	0,1310 a
Testemunha	0,0000 d	0,0000 c	0,0386 a	0,0143 a	0,1310 a
C. V. (%)	8,33	6,30	8,97	15,68	26,94

\* = Fitointoxicação avaliada as 12 e 24 horas após a aplicação dos tratamentos.

Com a aplicação dos óleos de *C. nardus* e de *E. citriodora*, na concentração de 20%, houve redução no acúmulo de matéria seca da parte aérea e de raízes, sendo mais de 50% de redução em relação à testemunha (Tabela 2). El-rokiek & Eid (2009), avaliando os efeitos do óleo de *E. citriodora* em plantas de aveia selvagem (*Avena fatua*), verificaram que a aplicação desse óleo extraído de folhas secas ou frescas reduziu o acúmulo de matéria seca da parte aérea das plantas nas concentrações de 12,5 e 25%. A aplicação de óleo de *C. nardus* 10% também proporcionou maior redução no acúmulo de massa seca da parte aérea e de raízes. A maioria dos estudos de avaliação do efeito herbicida do óleo de *C. nardus* aborda somente testes *in vitro*, com avaliações da germinação de sementes e do desenvolvimento de plântulas. O número de perfilhos das plantas de capim-colchão não foi afetado pela aplicação dos óleos estudados, entretanto para o capim carrapicho houve diferença significativa mostrando que a inibição dos óleos e do composto majoritário a 20%.

Associado aos efeitos fitoxidade dos óleos essencial de *C. nardus* e *E. citriodora* e o composto majoritário citronelal para *D. horizontalis* e *C. echinatus* podem estar associado pela ação lipofítica e o desacoplamento da fotofosforilação oxidativa em suprimir a respiração e assim o desequilíbrio energia celular. Segundo Lorber e Muller (1976), demonstram que terpenos voláteis danificam mitocôndrias e assim prejudicam negativamente respiração e metabolismo de energia. Diminuindo assim, o acúmulo de matéria seca nas plantas tratadas com óleo essencial, além de afetar diretamente o desenvolvimento normal das plântulas.

#### 4. CONCLUSÃO

O efeito do *E. citriodora* e *C. nardus* e do composto citronelal a 20% foi a que teve maior efeito fitotóxico na planta provocando morte da planta no período de 24 horas e o efeito tóxico apareceu em menos de 1 hora após a aplicação, por esses motivos podemos concluir que apesar da *C. nardus* ter em menor quantidade do composto citronelal, o *C. nardus* teve efeito de sinergismo podemos afirmar que os óleos essenciais têm efeito fitotóxico para planta podendo ser futuros bioherbicidas. Os óleos de *E. citriodora*, *C. nardus* e o composto citronelal provocaram intoxicação, redução no acúmulo de massa seca da parte aérea e de raízes das plantas, sendo os efeitos tóxicos visuais iniciados após uma hora da aplicação. Dessa forma, esses óleos apresentam potencial herbicida.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

ADAMS, R.P. Identification of essential oil component by chromatography/mass spectroscopy. **Allured Publishing company profile in Carol Stream**, p.468, 1995.

ANAYA, L.A. Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. **Critical review in plant science**, v.18, n.6, p.697, 1999.

BALBINOT Jr, A. A.; FLECK, N. G.; AGOSTINETTO, D.; RIZZARDI, M. A. Predação de sementes de plantas daninhas em áreas cultivadas. **Ciência Rural**, v.32, p.707-714, 2002.

BATISH, D.R.; SETIA, N.; SINGH, H.P.; KOHLI, R.K. Phytotoxicity of lemon-scented eucalyptus oil and its potential use as a bioherbicide. **Crop Protect**, v.23, p.1209–1214, 2004.

BATISH, D.R.; SINGH, H.P.; SETIA, N.; KAUR, S.; KOHLI, R.K. Chemical composition and inhibitory activity of essential oil from decaying leaves of *Eucalyptus citriodora*. **Z. Naturforsch**, v.61, p.52-56, 2006.

BOYD, N.S.; BRENNAN, E.B. Burning Nettle, Common Purslane, and Rye Response to a Clove Oil Herbicide. **Weed Technology**, v.20, p.646-650, 2006.

BOYD, N. S.; BRENNAN, E. B.; AND FENNIMORE, S.A. Stale seedbed techniques for organic vegetable production. **Weed Technology**, v.20, p.1052–1057, 2006.

CARVALHO, J. C. Mecanismo de ação dos herbicidas e sua relação com a resistência a herbicidas. In: CHRISTOFFOLETI, P. J. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**, p.23-48, 2004.



CASTRO, D.P.; CARDOSO, M.G.; MORAES, J.C.; SANTOS, N.M. & BALIZA, D.P. Não preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: *Noctuidae*) por óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, p.27-32, 2006.

CLAY, D. V.; DIXON, F. L.; WILLOUGHBY, I. Natural products as herbicides for tree establishment **Forestry**, v.78, p.1, 2005.

CURRAN, W. S. The Pennsylvania State University herbicide field trials. Finish Report. v.4, p.200–206, 2004. Web page: <http://www.weeds.cas.psu.edu/pdf/trials04.pdf>.

DAYAN, F. E.; HOWELL, J. L.; WEIDENHAMER, J. D. Dynamic root exudation of sorgoleone and its in planta mechanism of action. **Journal of Experimental Botany**. v.60, p.2107-2117, 2009.

EL-ROKIEK, K.G. and EID, R.A. Allelopathic Effects of *Eucalyptus Citriodora* On Amaryllis And Associated Grassy Weed. **Planta Daninha**, v.27, p.887-899, 2009.

ENS, E.J.; BREMNER, J.B.; FRENCH, K.; KORTH, J. Identification of volatile compounds released by roots of an invasive plant, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* spp. Rotundata), and their inhibition of native seedling growth. **Biology Investigación**, v.11, p.275–287, 2009.

LORBER, P.; MULLER, W.H. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia leucophylla*: effects on seedling root tip ultrastructure. **American Journal of Botany**, v.63, p.196–200, 1976.

SILVA, A.A. Mecanismo de ação de herbicidas. In: SILVA, A.A.; SILVA, J.F. (eds.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**, p.367, 2007.

SINGH, H.P.; BATISH, D.R.; KOHLI, R.K. Allelopathic interactions and allelochemicals: new possibilities for sustainable weed management. **Review Plant Science**, v.22, p.239–311, 2003.

SINGH, H.P.; BATISH, D.R.; SETIA, N.; KOHLI, R.K. Herbicidal activity of volatile essential oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*. **Annals of Applied Biology**, v.146, p.89–94, 2005.

SMITH, R. Post emergence organic weed control in onions and broccoli. **Crop Notes**, p.10-12, 2004.

SMITH, R. Broccoli: Organic Weed Control Trials. [http://ucce.ucdavis.edu/files/filelibrary/](http://ucce.ucdavis.edu/files/filelibrary/p.1598-29476), p.1598-29476, 2006.pdf. Accessed: December 12/2008.

VANDENDOLL, H. & KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v.11, p.463-471, 1963.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)