

Composição química e toxicidade de óleos essenciais para o pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852)

Chemical composition and toxicity of essential oils to the green-aphid *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852)

Rafaela Karin Lima^{1*}, Maria das Graças Cardoso², Jair Campos Moraes³, Stephan Malfitano Carvalho⁴, Bruno Almeida Melo³, Sara Silveira Vieira²

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo identificar e quantificar os constituintes dos óleos essenciais de *Illicium verum*, *Ageratum conyzoides*, *Piper hispidinervum* e *Ocotea odorifera*, bem como avaliar a toxicidade para o pulgão-verde *Schizaphis graminum*. A qualificação dos constituintes foi realizada por meio de um cromatógrafo gasoso + espectrômetro de massas, e a quantificação, por um cromatógrafo gasoso + detector de ionização de chama, ambos com uma coluna DB5. O método de hidrodestilação promoveu um rendimento (p/p) de 3,81% para *I. verum*, 0,46% para *A. conyzoides*, 2,85% para *P. hispidinervum* e 0,68% para *O. odorifera*. Já os componentes majoritários foram: precoceno (87,0%) e (E)-cariofileno (7,1%) para *A. conyzoides*; (E)-anetol (90,4%), limoneno (2,6%) e metil-chavicol (1,3%) para *I. verum*; metil-eugenol (81,2%) e safrol (10,6%) para *Ocotea odorifera*; e safrol (82,5%) e α -terpinoleno (13,4%) para *P. hispidinervum*. Pelos testes de toxicidade aguda (24 horas) com folhas de sorgo ou papel-filtro contaminados, verificou-se que o óleo de *A. conyzoides* foi o mais tóxico para o pulgão, com CL_{50} de 7,13 e 7,08 μ L óleo/cm² respectivamente, seguido por *O. odorifera* com CL_{50} de 11,80 e 103,00 μ L óleo/cm² respectivamente; *I. verum* de 51,80 μ L óleo/cm² em ambos os substratos; e o menos tóxico foi o óleo essencial de *P. hispidinervum*, com CL_{50} de 62,50 e 143,00 μ L óleo/cm², respectivamente. Dessa maneira, sugere-se que o uso dos óleos essenciais pode representar uma nova ferramenta em programas de manejo integrado de pragas.

PALAVRAS-CHAVE: *Illicium verum*; *Ageratum conyzoides*; *Piper hispidinervum*; *Ocotea odorifera*; compostos aromáticos; atividade inseticida; Aphididae.

ABSTRACT: The aim of this study was to assess the chemical composition of essential oils of *Illicium verum*, *Ageratum conyzoides*, *Piper hispidinervum* and *Ocotea odorifera*, as well as their toxicity to the green-aphid *Schizaphis graminum*. Compound identification was carried out with gas chromatography + mass spectrometry, and quantification with gas chromatography + flame ionization detector, both with DB5 column. The hydrodistillation process promoted oil yield of 3.81% for *I. verum*; 0.46% for *A. conyzoides*; 2.85% for *P. hispidinervum*; and 0.68% for *O. odorifera*. The major components from the oils of *A. conyzoides* was precocene (87.0%) and (E)-caryophyllene (7.1%); (E)-anethol (90.4%), limonene (2.6%) and methyl-chavicol (1.3%) for *I. verum*; methyleugenol (81.2%) and safrole (10.6%) for *O. odorifera*; and safrole (82.5%) and α -terpinolene (13.4%) for *P. hispidinervum*. The acute toxicity test (24 hours) performed by contact in sorghum leaves or contaminated filter-paper showed that the higher toxicity occur with essential oils of *A. conyzoides*, with LC_{50} of 7.01 and 7.01 μ g oil/cm², respectively; followed by *O. odorifera*, with LC_{50} of 17.10 and 66.70 μ g oil/cm², respectively; *I. verum*, with LC_{50} of 66.40 and 65.40 μ g oil/cm², respectively; and low toxicity was observed for the *P. hispidinervum* essential oil, with LC_{50} of 64.00 and 143.00 oil/cm², respectively. With the results obtained in this research, we can state that the use of these essential oils can be a new tool in integrated pest management.

KEYWORDS: *Illicium verum*; *Ageratum conyzoides*; *Piper hispidinervum*; *Ocotea odorifera*; aromatic compounds; insecticidal activity; Aphididae.

¹Departamento de Ciências Naturais; Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ) – São João Del Rei (MG), Brasil.

²Departamento de Química; Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras (MG), Brasil.

³Departamento de Entomologia; UFLA – Lavras (MG), Brasil.

⁴Centro de Estudo de Insetos Sociais; Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Rio Claro (SP), Brasil.

*Autor correspondente: rafakarim@yahoo.com.br

Recebido em: 29/06/2011. Aceito em: 16/12/2013.

INTRODUÇÃO

O pulgão *Schizaphis graminum* (Rondoni, 1852) (Hemiptera: Aphididae) é um importante inseto-praga das culturas de trigo e sorgo, presente nas Américas do Norte e Sul, Europa, África e no meio-oeste da Ásia (BLACKMAN; EASTOP, 2000). Seu ataque ocorre em todos os estádios fenológicos das plantas, mas preferencialmente em novas brotações, acarretando danos pela sucção da seiva, transmissão de vírus, injeção de toxinas e redução do estande (SALVADORI; TONET, 2001). Em detrimento aos métodos convencionais de controle, empregando inseticidas sintéticos de amplo espectro de ação, o uso de produtos naturais, tais como os óleos essenciais, destaca-se por apresentar bons índices de controle. Além disso, possibilitam o uso integrado em programas de Manejo Integrado de Pragas, tornando-se uma alternativa ecologicamente correta para o controle de insetos-praga (REGNAULT-ROGER, 1997; COITINHO *et al.*, 2010).

Nesse sentido, MENDONÇA *et al.* (2005) verificaram que extratos e óleos essenciais de plantas brasileiras possuem ação inseticida contra larvas de *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762), fazendo desses compostos uma importante fonte de estudo no controle desse vetor. ESTRELA *et al.* (2006) estudaram os óleos essenciais de duas espécies do gênero *Piper* e concluíram que ambos são tóxicos para *Sitophilus zeamais* Mots., 1855. Já FAZOLIN *et al.* (2007) concluíram que os óleos essenciais de duas piperáceas e uma bignoniácea foram tóxicos ao *Tenebrio molitor* L., 1758; bem como LIMA *et al.* (2009), avaliando o óleo essencial de *Piper hispidinervum* C. DC. (Piperaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797). Com relação ao controle de afídeos, trabalhos recentemente publicados comprovaram que os óleos essenciais são uma alternativa eficiente para o controle dessas pragas. Por exemplo, os óleos essenciais de citronela, mentrasto, anis-estrelado, pimenta-longa, alfazema, entre outros, foram eficazes no controle dos pulgões (Hymenoptera: Aphididae) *Myzus persicae* Sulzer, 1776, *Macrosiphum euphorbiae* Thomas, 1878, *Aphis gossypii* Glover, 1877, *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 e *Hyadaphis foeniculi* Passerini, 1860 (PAVELA, 2006; ABRAMSON *et al.*, 2006; SOARES *et al.*, 2011; SOARES *et al.*, 2012; ANDRADE *et al.*, 2013; PINHEIRO *et al.*, 2013).

De maneira geral, a atividade tóxica dos óleos essenciais sobre diversos micro-organismos e artrópodes-praga pode estar relacionada ao conjunto de substâncias em sua composição, e não somente a cada um dos compostos majoritários (VARDAR-UNLÜ *et al.*, 2003). Portanto, um dos fatores mais relevantes no estudo de sua aplicabilidade é sua composição química, a qual pode variar em uma mesma planta devido a fatores ligados à biologia (genética, nutrição e fase de desenvolvimento), além daqueles edafoclimáticos (local, condições climáticas e tipo de solo) (LIMA *et al.*, 2003).

As espécies pimenta-longa *P. hispidinervum* e canela-sassafrás *Ocotea odorifera* Vellozo Rohwer (Lauraceae) são largamente

encontradas na região amazônica, apresentando em seu óleo essencial o safrol como principal constituinte. Este fenilpropano se destaca devido às propriedades antimicrobiana e inseticida, sendo utilizado como fonte para a síntese de vários medicamentos, inclusive de alguns piretroides. O mentrasto, *Ageratum conyzoides* Linnaeus (Asteraceae), é uma planta conhecida no Brasil e usada na medicina popular por seu potencial fitoterápico (analgésico e cicatrizante), sendo que seu óleo é composto principalmente por precocenos (I e II) (LORENZI; MATOS, 2002). O anis-estrelado, *Illicium verum* Hook. F. (Schisandraceae), é muito utilizado como condimento e cosmético, podendo conter como constituinte majoritário o (E)-anetol, o qual possui ação fungicida contra dermatófitos (KOSALEC *et al.*, 2005).

Nesse contexto, objetivou-se identificar e quantificar os constituintes dos óleos essenciais de *I. verum*, *A. conyzoides*, *P. hispidinervum* e *O. odorifera*, bem como avaliar a toxicidade sobre o pulgão-verde *S. graminum* em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos óleos essenciais

O óleo essencial de *I. verum* foi obtido a partir de 100 g de frutos secos adquiridos no comércio local de Lavras (MG), e aqueles de *A. conyzoides*, *P. hispidinervum* e *O. odorifera*, a partir de 300 g de folhas frescas coletadas no horto de plantas medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (21° 14' S; 45° 00' W, altitude de 919 m e temperatura média anual de 26°C) durante o período da manhã e entre os meses de abril e maio de 2007. Cada espécime foi identificado e catalogado no herbário ESAL do Departamento de Biologia da UFLA (*A. conyzoides* reg. 12.726; *P. hispidinervum* reg. 23.013; *O. odorifera* reg. 22.215).

O processo de obtenção dos óleos essenciais foi o de hidrodestilação por meio de um aparelho de Clevenger modificado, com duração de 2,5 horas, pelo qual o hidrolato obtido foi centrifugado a 965 g a 25°C, durante 5 minutos, para promover a separação entre as fases aquosa e oleosa, sendo esta última coletada e armazenada em frasco de vidro âmbar a 4°C até a realização das análises posteriores (LIMA *et al.*, 2009).

Análise qualitativa dos óleos essenciais

A identificação dos componentes foi realizada por meio de cromatografia gasosa utilizando um equipamento Shimadzu (GC-17A) acoplado a um espectrômetro de massas com detector seletivo (QP 5000). Foi empregada uma coluna do tipo capilar de sílica fundida e fase ligada (DB5, 30 m x 0,25 mm), sendo a fase móvel o gás hélio (1 mL/min.), com temperaturas de 220°C no injetor e 240°C no detector. A temperatura

do forno foi de 40 a 240°C, com acréscimo de 3°C/min; a pressão inicial na coluna foi de 100,2 KPa; taxa de split 1:10 e volume injetado de 1 µL (soluções a 1% (v/v) em diclorometano). Nas mesmas condições da amostra, foi injetada uma série de padrões de hidrocarbonetos (C₉H₂₀ à C₂₆H₅₄), gerando a regressão $f(x) = 25.294TR + 610.630$, na qual TR é o tempo de retenção de cada composto. Dessa maneira, foram comparados os espectros de massa de cada composto com o banco de dados da biblioteca Wiley 229, como também pelo índice Kovat's tabelado (ADAMS, 2007).

Análise quantitativa dos óleos essenciais

A quantificação das substâncias foi realizada a partir da área dos picos obtidos nos cromatogramas, expressa em porcentagem da área total, sendo realizada em triplicata, obtendo-se assim a média e o desvio padrão. Para isso, utilizou-se um cromatógrafo Shimadzu (GC-17A) equipado com detector de ionização de chama de hidrogênio e coluna capilar de sílica fundida e fase ligada (DB5, 30 m x 0,25 mm). O gás de arraste foi o nitrogênio (2,2 mL/min.); taxa split de 1:10 e volume de amostra injetado de 1 µL (soluções a 1% (v/v) em diclorometano). A temperatura inicial da coluna foi de 40°C com acréscimo de 3°C/min., até 240°C. As temperaturas do injetor e do detector foram fixadas em 220°C e 240°C, respectivamente, com a pressão da coluna de 115 KPa.

Avaliação toxicológica dos óleos essenciais sobre o pulgão-verde

Pulgões adultos ápteros com idade média de 2 a 3 dias foram obtidos em uma criação de manutenção do Departamento de Entomologia da UFPA, usando folhas de *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Poacea) cultivar BR-85, temperatura de 26 ± 2°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 14 horas.

Para a determinação dos valores de concentração letal (CL₁₀; CL₅₀ e CL₉₀), diversas concentrações dos óleos essenciais foram preparadas diluindo-as em acetona, obtendo gamas de concentração (v/v) 0,025 a 3,0% para *A. conyzoides*; 0,3 a 2,0%, para *I. verum*; 1,0 a 2,5%, para *P. hispidinervum*; e 0,2 a 2,6%, para *O. odorifera*. No caso dos tratamentos controle, foi utilizado somente o solvente acetona. Os ensaios de toxicidade aguda foram realizados em delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial (4 óleos x 2 substratos x 9 concentrações), sendo que cada parcela amostral foi composta por uma placa de Petri com dez pulgões adultos ápteros e repetidos seis vezes, totalizando 60 indivíduos por concentração.

Em um primeiro experimento, discos foliares de sorgo foram utilizados como substrato para a contaminação com os óleos essenciais, bem como para a alimentação dos pulgões. Seções circulares de 19,6 cm² foram higienizadas com hipoclorito de sódio a 1%, enxaguadas com água destilada, acondicionadas e fixadas em placa de Petri (5 cm de diâmetro) por

uma solução de água:água a 2% e fechadas por filme de PVC. No segundo experimento, devido ao interesse em verificar somente o efeito tóxico dos óleos essenciais, sem a alimentação dos pulgões, contaminaram-se seções circulares de 19,6 cm² de papel-filtro, acondicionando-as no fundo das placas de Petri, e fechando-as com filme de PVC. Em ambos os experimentos, utilizando folha de sorgo ou papel-filtro, as superfícies foram contaminadas uniformemente pela distribuição de 4 mL de uma das soluções de acetona:óleo essencial, a qual foi realizada com auxílio de uma micropipeta automática (GUTIÉRREZ et al., 1997). Devido à impossibilidade de manutenção dos pulgões durante um período de 48 horas sem alimentação, o ensaio de contaminação em papel-filtro teve duração máxima de 24 horas. No ensaio em que as folhas de sorgo foram contaminadas com os óleos essenciais, as avaliações ocorreram 24 e 48 horas após a liberação dos pulgões. Durante as avaliações, foram também considerados como pulgões mortos aqueles que não respondiam a estímulos.

Os dados de mortalidade foram submetidos à análise estatística do tipo dose-resposta, empregando-se modelos logísticos do pacote DRC (*Analysis of Dose-Response Curves*), compilado pelo software R* (2010). Com a escolha dos melhores modelos, foram então estimados os valores das concentrações letais (CL₁₀; CL₅₀ e CL₉₀) com os respectivos intervalos de confiança (95%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais

Pelo processo de hidrodestilação empregado, obteve-se um rendimento (p/p) de óleo essencial na ordem de 3,81% para *I. verum*; 2,85% para *P. hispidinervum*; 0,68% para *O. odorifera*; e 0,46% para *A. conyzoides*. De maneira geral, observa-se que os rendimentos obtidos estão de acordo com aqueles apresentados por RODRIGUES et al. (2003) para *I. verum* (3,31% p/p); por CASTRO et al. (2004), para o óleo essencial de *A. conyzoides*, os quais observaram uma variação de 0,49 a 0,70% (p/p); e por FAZOLIN et al. (2007), que verificaram um rendimento de 3 a 3,5% (p/p) para o óleo de *P. hispidinervum*. Somente para *O. odorifera*, o rendimento encontrado neste estudo foi inferior ao relatado por CASTELLANI et al. (2006), já que, segundo esses autores, a variação está ligada em função da coleta durante o período de outono.

O óleo essencial de *A. conyzoides* apresentou o preceno (87,00%) como seu composto majoritário, seguido do (E)-cariofileno (7,10%), e, em menores concentrações, os sesquiterpenos β-cubebeno, α-humuleno, germanceno-D e γ-cadineno (Tabela 1), resultados que são concordantes com os obtidos por KONG et al. (1999). Segundo CASTRO et al. (2004),

existe uma grande variação na composição dos óleos essenciais de *A. conyzoides* em função do local de coleta das amostras. Contudo, os resultados aqui obtidos corroboram aqueles apresentados por esses autores. No que se refere ao óleo essencial da espécie *I. verum*, encontrou-se na maioria das vezes o composto (E)-anetol (90,40%), em menores quantidades, o limoneno (2,60%) e metil-chavicol (1,30%), além de pequenas concentrações do α -pineno, linalol e 4-terpineol. Esses dados estão de acordo com aqueles apresentados por RODRIGUES *et al.* (2003), que encontraram maioria de (E)-anetol (90,00%), além de outros compostos, como o seu isômero, (Z)-anetol, e os fenilpropanoides metil-chavicol e anisalaldeído. Esses autores destacam que pequenas diferenças podem ocorrer entre alguns compostos, provavelmente relacionadas aos processos de extração, quantificação/identificação, além de alterações ligadas à origem do material vegetal, local de coleta, clima e fertilidade do solo.

No caso do óleo de *P. hispidinervum*, verificou-se em sua constituição o safrol (82,50%) e o α -terpinoleno (13,40%), em maiores proporções, e em menores concentrações os monoterpenos α -pineno e δ -3-careno (Tabela 1). Esses resultados divergem dos encontrados por FAZOLIN *et al.* (2007) que, usando plantas originadas do estado do Acre, verificaram que a porcentagem

de safrol contida em plantas de *P. hispidinervum* era superior a 90,00%. Novamente, esta diferença pode estar associada a diversos fatores bióticos e abióticos aos quais determinada planta pode estar exposta, tais como insolação, tipo de solo, umidade relativa, presença de pragas e doenças. Esses fatores podem induzir diferentes mecanismos bioquímicos envolvidos na síntese do metabolismo secundário e, conseqüentemente, nas composições dos óleos essenciais (SIMÕES; SPTIZER, 2004). Para *O. odorifera* foi encontrado um alto teor dos fenilpropanoides, como o metil-eugenol (81,20%), seguido do safrol (10,60%), e, em pequenas proporções, 1,8-cineol e cânfora. Algumas pesquisas observaram que os teores de safrol e de metil-eugenol são variáveis, novamente dependendo da região de ocorrência dessa espécie vegetal (RIZZINI; MORS, 1995). Ressalta-se que a variação no rendimento do óleo essencial de *O. odorifera* está diretamente ligada ao período de coleta e à fonte vegetal usada (folha, galhos, cascas), conforme descrito por CASTELLANI *et al.* (2006).

Efeitos toxicológicos dos óleos essenciais

Entre os quatro óleos essenciais avaliados, verificou-se que aquele originado de *A. conyzoides* foi o mais tóxico, apresentando

Tabela 1. Composição química, concentração (% \pm E.P.), índices de Kovat's calculado (IK_c) (baseados nos tempos de retenção de uma mistura para uma série de n-alcenos) e índices de Kovat's tabelado (IK_t) (Adams, 2007) dos óleos essenciais de *Ageratum conyzoides*, *Illicium verum*, *Piper hispidinervum* e *Ocotea odorifera*.

Espécie vegetal	Composto	Concentração	IK_c	IK_t
<i>Ageratum conyzoides</i>	precoceno	87,02 \pm 0,14	1472	1469
	(E)-cariofileno	7,08 \pm 0,13	1410	1404
	α -humuleno	1,18 \pm 0,02	1459	1454
	γ -cadineno	1,18 \pm 0,06	1517	1513
	β -cubeno	0,69 \pm 0,00	1394	1390
	germancreno-D	0,52 \pm 0,01	1486	1480
<i>Illicium verum</i>	(E)-anetol	90,41 \pm 0,29	1286	1283
	limoneno	2,65 \pm 0,17	1031	1031
	metil-chavicol	1,26 \pm 0,01	1201	1195
	linalol	1,07 \pm 0,02	1110	1098
	α -pineno	0,35 \pm 0,03	933	939
<i>Piper hispidinervum</i>	safrol	82,40 \pm 0,80	1290	1285
	α -terpinoleno	13,38 \pm 0,65	1088	1088
	δ -3-careno	1,30 \pm 0,07	1010	1011
	α -pineno	0,68 \pm 0,05	933	939
<i>Ocotea odorifera</i>	metil-eugenol	81,20 \pm 1,70	1407	1401
	safrol	10,60 \pm 0,56	1290	1285
	cânfora	5,87 \pm 0,77	1145	1143
	1,8-cineol	0,64 \pm 0,17	1030	1033

valores de CL_{50} no ensaio com folha de sorgo contaminada de 7,13 e 2,50 μL óleo/ cm^2 , após 24 e 48 horas, respectivamente; e no de papel-filtro, 7,08 μL óleo/ cm^2 , após 24 horas. Os valores de CL_{10} e CL_{90} foram de 0,91 e 54,80 μL óleo/ cm^2 (24 horas) e 0,26 e 26,80 μL óleo/ cm^2 (48 horas) no ensaio com folha de sorgo e de 0,97 e 52,70 óleo/ cm^2 (24 horas), quando usando papel-filtro com superfície contaminada (Tabela 2). Verificaram-se que os valores das concentrações letais no período de 24 horas nos ensaios com folhas de sorgo e papel-filtro contaminados foram similares, evidenciando a alta toxicidade desse óleo para *S. graminum*.

A alta toxicidade do óleo essencial de *A. conyzoides* verificada neste estudo está de acordo com REGNAULT-ROGER (1997) e OKUNADE (2002), que afirmaram que este óleo essencial pode se tornar uma excelente alternativa para o uso no controle integrado de pragas. Como observado aqui, BOUDA et al. (2001) também concluíram que o óleo essencial de *A. conyzoides* é tóxico para *Sitophilus zeamais* (Mots.), principalmente pela presença dos precocenos I e II, apresentando CL_{50} de 0,09 % (p/p). Segundo MENDONÇA et al. (2005), *A. aegypti* foi altamente suscetível ao óleo essencial de *A. conyzoides*, com 100% de mortalidade das larvas após 48 horas e CL_{50} de 148 μg óleo/L água. SAXENA et al. (1992) e OKUNADE (2002) atribuíram a toxicidade desse óleo essencial

à presença de precocenos, os quais podem ter ação sobre o hormônio juvenil, acelerando o processo de metamorfose e originando adultos com alterações morfológicas e fisiológicas. Recentemente, SOARES et al. (2011) verificaram que o óleo essencial de *A. conyzoides* aplicado em dosagens superiores a 0,5%, foi capaz de matar 100% dos pulgões *M. euphorbiae* em roseira, caracterizando o potencial inseticida deste composto e justificando sua utilização como uma alternativa no controle de insetos-praga.

O óleo essencial de *I. verum* demonstrou ser tóxico aos pulgões, porém, em concentrações mais elevadas, com CL_{50} de 51,80 e 40,50 μL óleo/ cm^2 (24 e 48 horas) quando foram utilizadas folhas de sorgo, e de 51,80 μg óleo/ cm^2 (24 horas), com a utilização de discos de papel-filtro (Tabela 2). Os valores de CL_{10} e CL_{90} no ensaio com folha de sorgo foram, respectivamente, 24,60 e 110,00 μL óleo/ cm^2 (24 horas) e 14,90 e 109,00 μL óleo/ cm^2 (48 horas), e com papel-filtro, de 24,60 e 109,00 μL óleo/ cm^2 (24 horas) (Tabela 2).

Observa-se que independentemente do tipo da superfície contaminada, elevadas taxas de mortalidade são encontradas quando os pulgões *S. graminum* entram em contato com o óleo essencial de *I. verum*, caracterizando-o como promissor para o controle desse pulgão. Similarmente, SOARES et al. (2012) também comprovaram que o óleo essencial de

Tabela 2. Concentração letal (CL_{10} ; CL_{50} e CL_{90} – μL óleo essencial/ cm^2) dos óleos essenciais utilizando os substratos folha de sorgo e papel-filtro, as 24 e 48 horas após a liberação de adultos do pulgão verde *Schizaphis graminum*.

Óleo essencial		Parâmetros estimados		
		Folha de sorgo		Papel-filtro
		24 horas	48 horas	24 horas
<i>Ageratum conyzoides</i>	CL_{10} (IC95%)	0,91 (0,56 - 1,53)	0,26 (0,10 - 0,46)	0,97 (0,56 - 1,53)
	CL_{50} (IC95%)	7,13 (5,40 - 9,38)	2,50 (1,78 - 3,52)	7,08 (5,40 - 9,27)
	CL_{90} (IC95%)	54,80 (35,80 - 83,80)	26,8 (18,00 - 39,70)	52,70 (35,10 - 79,40)
	GL – χ^2 – n	36 - 41,98 - 400	50 - 56,59 - 500	38 - 43,37 - 400
<i>Illicium verum</i>	CL_{10} (IC95%)	24,60 (21,00 - 28,70)	14,90 (11,80 - 18,80)	24,60 (21,00 - 28,70)
	CL_{50} (IC95%)	51,80 (48,20 - 55,70)	40,50 (36,60 - 44,70)	51,80 (48,20 - 55,70)
	CL_{90} (IC95%)	110,00 (93,70 - 130,00)	109,00 (95,60 - 125,40)	109,00 (95,60 - 125,00)
	GL – χ^2 – n	55 - 59,00 - 510	58 - 50,92 - 510	55 - 59,00 - 510
<i>Piper hispidinervum</i>	CL_{10} (IC95%)	41,40 (28,10 - 61,00)	29,20 (21,80 - 39,20)	121,00 (109,00 - 133,00)
	CL_{50} (IC95%)	62,50 (51,50 - 75,80)	55,10 (48,30 - 62,90)	143,00 (136,00 - 151,00)
	CL_{90} (IC95%)	104,00 (94,10 - 115,00)	94,30 (81,30 - 109,00)	170,00 (161,00 - 181,00)
	GL – χ^2 – n	53 - 58,44 - 570	46 - 38,02 - 450	54 - 28,64 - 570
<i>Ocotea odorifera</i>	CL_{10} (IC95%)	3,26 (1,78 - 5,91)	3,16 (1,68 - 5,86)	83,50 (70,90 - 98,30)
	CL_{50} (IC95%)	11,80 (8,61 - 16,20)	11,70 (8,46 - 16,20)	103,00 (95,20 - 111,00)
	CL_{90} (IC95%)	43,20 (34,30 - 54,30)	42,50 (34,00 - 53,10)	127,00 (118,00 - 136,00)
	GL – χ^2 – n	46 - 34,56 - 450	43 - 30,45 - 420	48 - 32,19 - 450

IC95%: intervalo de confiança a 95%; GL: grau de liberdade; χ^2 : qui-quadrado do modelo; n: número total de indivíduos testados.

I. verum apresenta ação inseticida e foi capaz de controlar os pulgões *M. euphorbiae* em roseira. Esses resultados são concordantes com aqueles obtidos por Ho *et al.* (1997), os quais verificaram que ovos, larvas e adultos de *Tribolium castaneum* (Herbst) e *S. zeamais*, são suscetíveis quando estão em contato com superfícies tratadas com derivados de *I. verum*. CHANG; AHN (2001) concluíram que o fenilpropeno (E)-anetol, componente majoritário do óleo essencial de *I. verum*, é tóxico à *Blattella germanica* (L.) igualando-se a inseticidas sintéticos.

Semelhante ao óleo essencial de *A. conyzoides* (Tabela 2), verificou-se a toxicidade do óleo essencial de *O. odorifera* aos pulgões, com valores de CL₅₀ de 11,80 e 11,70 µL óleo/cm² (24 horas e 48 horas, respectivamente), no ensaio com folhas de sorgo, e de 103,00 µL óleo/cm² (24 horas) com o papel-filtro. Os valores de CL₁₀ foram de 3,26 e 3,16 µL óleo/cm² (24 e 48 horas em folha de sorgo) e 83,50 µL óleo/cm² (24 horas em papel-filtro), e os valores de CL₉₀ foram de 43,20 e 42,50 µL óleo/cm² (24 e 48 horas em folha de sorgo) e 127,00 µL óleo/cm² (24 horas em papel-filtro). Observa-se que no ensaio com papel-filtro as concentrações letais foram superiores, demonstrando serem menos tóxicas nessa forma de contaminação em relação à contaminação em folhas de sorgo. Provavelmente, a diferença encontrada entre os valores de CL nos dois substratos está relacionada à maior exposição durante o caminhar e/ou pelo ato de introdução do aparelho bucal na folha para alimentação.

Embora não se tenha conhecimento sobre estudos toxicológicos utilizando pulgões, resultados semelhantes aos da presente pesquisa foram obtidos por NGOH *et al.* (1998) com os fenilpropanóides metil-eugenol e safrol, substâncias essas encontradas em abundância no óleo essencial de *O. odorifera*. Durante os ensaios de intoxicação por contato, esses autores concluíram que metil-eugenol e safrol apresentam efeito neurotóxico e provocam a morte de *Periplaneta americana* (L.). No caso específico de metil-eugenol, este composto apresentou efeito *knockdown*, de maneira semelhante aos inseticidas do grupo dos piretroides, sugerindo que o mesmo possa estar interagindo, direta ou indiretamente, com o processo de transmissão axônica. No caso do metil-eugenol, HUANG *et al.* (2002) também verificaram que esse composto possui ação tóxica sobre *S. zeamais* e *T. castaneum*.

Dentre todos, o óleo essencial de *P. hispidinervum* foi o menos tóxico aos pulgões, sendo a CL₅₀ no ensaio com folhas de sorgo contaminadas de 62,50 e 55,10 µL óleo/cm² (24 e 48 horas), e de 143,00 µL óleo/cm² em papel-filtro (24 horas). As demais concentrações letais foram: CL₁₀ de 41,40 e 29,20 µL óleo/cm² (24 e 48 horas; folha de sorgo) e 121,00 µL óleo/cm² (24 horas; papel-filtro). As CL₉₀ foram de 104,00 e 94,30 µL óleo/cm² (24 e 48 horas; folha de sorgo) e 170,00 µL óleo/cm² (24 horas; papel-filtro) (Tabela 2).

Comparando-se os valores de concentração letal do óleo de *P. hispidinervum* entre as duas superfícies contaminadas (24 horas), observou-se que no ensaio com folhas de sorgo os valores (CL₅₀) são substancialmente menores, em média 2,28 vezes em relação ao papel-filtro. Como observado com o óleo essencial de *O. odorifera*, sugere-se que a diferença entre os valores esteja relacionada à maior exposição dos pulgões ao óleo essencial durante o caminhar e/ou alimentação, como também pelo modo de ação dos compostos. Considerando o aspecto comportamental e o desenvolvimento de *A. gossypii*, ANDRADE *et al.* (2013) verificaram que o óleo essencial de *P. hispidinervum* não afetou nem a repelência nem a quantidade de ninfas deste afídeo. Entretanto, conforme também observado em nosso estudo, SOARES *et al.* (2012) observaram que este óleo essencial foi tóxico para os pulgões *M. euphorbiae*, justificando que a ação inseticida está diretamente correlacionada com a presença do (E)-anetol. Toxicidade semelhante à observada neste trabalho foi obtida por NGOH *et al.* (1998), após exporem *P. americana* ao contato com papel-filtro contaminado com safrol. Eles concluíram que esse composto majoritário do óleo essencial de *P. hispidinervum* é neurotóxico e induz ao *knockdown*. Em outro estudo, HUANG *et al.* (1999) concluíram que o safrol obtido em óleo essencial de *P. hispidinervum* possui potencial tóxico por contato e fumação frente a *S. zeamais* e *T. castaneum*, além de apresentar efeito de deterrência para adultos de *S. zeamais* quando em concentrações superiores a 8,11 mg safrol/g de alimento.

CONCLUSÃO

Os componentes majoritários encontrados foram o precoceno e o (E)-cariofileno para *A. conyzoides*; metil-eugenol e safrol, para *O. odorifera*; (E)-anetol para *I. verum*; safrol e α-terpinoleno, para *P. hispidinervum*. Pelos estudos toxicológicos, observaram-se que ambos os óleos foram tóxicos para *S. graminum*, sendo a ordem de toxicidade: *A. conyzoides*, *O. odorifera*, *I. verum* e *P. hispidinervum*. Portanto, conclui-se que o uso de óleos essenciais pode constituir uma alternativa para o controle desse afídeo.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelos apoios financeiros.

REFERÊNCIAS

- ABRAMSON, C.I.; WANDERLEY, P.A.; WANDERLEY, M.J.A.; MINÁ, A.J.S.; SOUZA, O.B. Effect of essential oil from citronella and alfazema on fennel aphids *Hyadaphis foeniculi* Passerini (Hemiptera: Aphididae) and its predator *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinellidae). *American Journal of Environmental Sciences*, v.3, n.1, p.9-10, 2006.
- ADAMS, R.P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007. 804p.
- ANDRADE, L.H.; OLIVEIRA, J.V.; LIMA, I.M.M.; SANTANA, M.F.; BRENDA, M.O. Efeito repelente de azadiractina e óleos essenciais sobre *Apis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em algodoeiro. *Revista Ciência Agronômica*, v.44, n.3, p.628-634, 2013.
- BLACKMAN, R.L.; EASTOP, V.F. *Aphis on the world's crops: An identification and information guide*. London: John Wiley & Sons, 2000. 466p.
- BOUDA, H.; TAPONDJOU, L.A.; FONTEM, D.A.; GUMEDZOE, M.Y.D. Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, v.37, n.2, p.103-109, 2001.
- CASTELLANI, D.C.; CASALI, V.W.D.; SOUZA, A.L.; CECON, P.R.; CARDOSO, C.A.; MARQUES, V.B. Produção de óleo essencial em canela (*Ocotea odorifera* Vell.) e guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz) em função da época de colheita. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.8, n.4, p.104-107, 2006.
- 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.
- CHANG, K.S.; AHN, Y.J. Fumigant activity of (E)-anethole identified in *Illicium verum* fruit against *Blattella germanica*. *Pest Management Science*, v.58, n.2, p.161-166, 2002.
- COITINHO, R.L.B.C.; OLIVEIRA, J.V.; GONDIM JÚNIOR, M.G.C.; CÂMARA, C.A.G. Persistência de óleos essenciais em milho armazenado, submetido à infestação de gorgulho do milho. *Ciência Rural*, v.40, n.7, p.1492-1496, 2010.
- ESTRELA, J.L.V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.2, p.217-222, 2006.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C.DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K.Shum sobre *Tenebrio molitor* L. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.31, n.1, p.113-120, 2007.
- GUTIÉRREZ C.; FERERES, A.; REINA, M.; CABRERA, R.; GONZÁLES-COLOMA, A. Behavioral and sublethal effects of structurally related lower terpenes on *Myzus persicae*. *Journal of Chemical Ecology*, v.23, n.6, p.1641-1650, 1997.
- HO, S.H.; MA, Y.; HUANG, Y. Anethole, a potential insecticide from *Illicium verum* Hook F., against two stored product insects. *International Pest Control*, v.39, p.50-51, 1997.
- HUANG, Y.; HO, S.H.; KINI, R.M. Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, v.92, n.3, p.676-683, 1999.
- HUANG, Y.; HO, S.H.; LEE, H.C.; YAP, Y.L. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, v.38, n.5, p.403-412, 2002.
- KONG, C.; HU, F.; XU, T.; LU, Y. Allelopathic potential and chemical constituents of volatile oil from *Ageratum conyzoides*. *Journal of Chemical Ecology*, v.25, n.10, p.2347-2356, 1999.
- Kosalec, I.; PEPELJNJAK, S.; KUSTRAK, D. Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharmaceutica*, v.55, n.4, p.377-85, 2005.
- LIMA, H.R.P.; KAPLAN, M.A.C.; CRUZ, A.M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. *Floresta e Ambiente*, v.10, n.2, p.71-77, 2003.
- LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G.; MORAES, J.C.; MELO, B.A.; RODRIGUES, V.G.; GUIMARÃES, P.L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Amazônica*, v.39, n.2, p. 377-38, 2009.
- Lorenzi, H.; Matos, F.J.A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002, 512p.
- MENDONÇA, F.A.C.; SILVA, K.F.; SANTOS, K.K.; RIBEIRO JÚNIOR, K.A.; SANT'ANA, A.E. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia*, v.76, n.7-8, p.629-636, 2005.
- NGOH, S.P.; CHOO, L.E.W.; PANG, F.Y.; HUANG, Y.; KINI, M.R.; HO, S.H. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *Pesticide Science*, v.54, n.3, p.261-268, 1998.
- OKUNADE, A.L. *Ageratum conyzoides* L. Asteraceae. *Fitoterapia*, v.73, n.1, p.1-16, 2002.
- PAVELA, R. Insecticidal activity of essential oils against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, v.9, n.2, p.99-106, 2006.

PINHEIRO, P.F.; QUEIROZ, V.T.; RONDELLI, V.M.; COSTA, A.V.; MARCELINO, T.P.; PRATISSOLI, D. Insecticidal activity of citronella grass essential oil on *Frankliniella schultzei* and *Myzus persicae*. *Ciência e Agrotecnologia*, v.37, n.2, p.138-144, 2013.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2010.

REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews*, v.2, n.1, p.25-34, 1997.

RIZZINI, C.T.; MORS, W.B. *Botânica econômica brasileira*. São Paulo: Editora Cultural, 1995. 241p.

RODRIGUES, V.M.; ROSA, P.T.; MARQUES, M.O.; PETENATE, A.J.; MEIRELES, M.A. A supercritical extraction of essential oil from aniseed (*Pimpinella anisum* L.) using CO₂: solubility, kinetics, and composition data. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, v.51, n.6, p.1518-1523, 2003.

SAXENA, R.C.; DIXIT, O.P.; SUKUMARAN, P. Laboratory assessment indigenous plants extracts for anti-juvenile hormone activity in *Culex quinquefasciatus*. *Indian Journal of Medical Research*, v.95, p.204-206, 1992.

SIMÕES, C.M.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2004. p.467-495.

SOARES, C.S.A.; SILVA, M.; COSTA, M.B.; BEZERRA, C.E.S.; CARVALHO, L.M.; SOARES, A.H.V. Atividade inseticida de óleos essenciais sobre *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae) em roseira. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v.7, n.1, p.169-175, 2012.

SOARES, C.S.A.; COSTA, M. B.; SOARES, A.H.V.; BEZERRA, C.E.S.; CARVALHO, L.M. Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) sobre o pulgão *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas, 1878) (Hemiptera: Aphididae) em roseira. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v.6, n.5, p.21-24, 2011.

VARDAR-UNLÜ, G.; CANDAN, F.; SÖKMEN, A.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M.; SÖKMEN, M.; DÖNMEZ, E.; TEPE, B. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and methanol extract of *Thymus pectinatus* Fish. et Mey. var. *Pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, n.1, p.63-67, 2003.