



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE
RECURSOS NATURAIS

DAVID JACKSON VIEIRA BORGES

**Respostas do predador *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae)
aos compostos orgânicos voláteis de folhas de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) e
identificação dos componentes de seu óleo essencial**

Uberlândia

2020

DAVID JACKSON VIEIRA BORGES

**Respostas do predador *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae)
aos compostos orgânicos voláteis de folhas de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) e
identificação dos componentes de seu óleo essencial**

Tese de doutorado apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ecologia e
Conservação de Recursos Naturais, como
requisito para obtenção do título de Doutor.
Área de concentração: Ecologia
Orientador: Prof. Dr. Jean Carlos Santos
Co-orientadora: Profa. Dra. Raquel Maria
Ferreira de Sousa

Uberlândia

2020

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

B732 2020	Borges, David Jackson Vieira, 1977- Respostas do predador <i>Chrysoperla externa</i> (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) aos compostos orgânicos voláteis de folhas de <i>Eucalyptus urograndis</i> (Myrtaceae) e identificação dos componentes de seu óleo essencial [recurso eletrônico] / David Jackson Vieira Borges. - 2020. Orientador: Jean Carlos Santos. Coorientadora: Raquel Maria Ferreira de Sousa. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.te.2020.174 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações. 1. Ecologia. I. Santos, Jean Carlos, 1979-, (Orient.). II. Sousa, Raquel Maria Ferreira de, 1981-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. IV. Título. CDU: 574
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais

Av. Pará, 1720, Bloco 2D, Sala 26 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38405-320
 Telefone: (34) 3225-8641 - www.pgeco.ib.ufu.br - ecologia@umuarama.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ecologia e Conservação de Recursos Naturais				
Defesa de:	Tese, número 65, PPGEARN				
Data:	vinte e sete de fevereiro de dois mil e vinte	Hora de início:	09:00	Hora de encerramento:	14:20
Matrícula do Discente:	11613ECR006				
Nome do Discente:	David Jackson Vieira Borges				
Título do Trabalho:	Respostas do predador <i>Chrysoperla externa</i> (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) aos compostos orgânicos voláteis de folhas de <i>Eucalyptus urograndis</i> (Myrtaceae) e identificação dos componentes de seu óleo essencial				
Área de concentração:	Ecologia				
Linha de pesquisa:	Ecologia comportamental e de interações				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Riqueza e distribuição de interações entre plantas, formigas e herbívoros trofobiontes em vegetação de Cerrado				

Reuniu-se na Sala 310, Bloco 8C, Campus Umuarama, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, assim composta: Professores Doutores: Helena Maura Torezan Silingardi - INBIO/UFU; Oswaldo Marçal Júnior - INBIO/UFU; Walter Santos de Araújo - Unimontes; Jarcilene Silva de Almeida - UFPE; Jean Carlos Santos - UFS, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Jean Carlos Santos, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

13/03/2020

SEI/UFU - 1857058 - Ata de Defesa - Pós-Graduação

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Oswaldo Marcal Júnior, Membro de Comissão**, em 28/02/2020, às 15:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Walter Santos de Araújo, Usuário Externo**, em 03/03/2020, às 17:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jean Carlos Santos, Usuário Externo**, em 03/03/2020, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Helena Maura Torezan Silingardi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 06/03/2020, às 12:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jarcilene Silva de Almeida, Usuário Externo**, em 13/03/2020, às 15:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1857058** e o código CRC **2B014E0E**.

Referência: Processo nº 23117.008412/2020-38

SEI nº 1857058

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e saúde para concluir esse trabalho.

À família, meu bem maior: meu pai Adalberto Borges e minha mãe Roseli Vieira, pelo exemplo de vida e incentivo. Aos meus irmãos, Roberta e Adalberto Júnior, por estarem juntos e presentes, mesmo à distância. Aos cunhados, Carol, Fabrício e Ricardo pela força e apoio. Meus sobrinhos Enzo, Diego, Leonardo e Mariane e a todos que incentivaram e torceram para que ao final tudo desse certo. À minha esposa Vanessa pela companhia em todos os momentos e por acreditar neste projeto. Ao meu filhote Lucas, que suportou tantas ausências e que tanto incentivou.

Ao Prof. Dr. Jean Carlos Santos pela orientação, parceria e incentivo, decisivos desde o início até a conclusão do estudo.

À Profa. Dra. Raquel Maria Ferreira de Sousa pela co-orientação, pelos ensinamentos em Química e pela total disponibilidade durante a realização do trabalho.

À Profa. Dra. Helena Maura Torezan e Prof. Dr. Oswaldo Marçal Júnior pelas orientações que foram fundamentais para a conclusão deste estudo. Aos membros externos da banca, Profa. Dra. Jarcilene Cortez e ao Prof. Dr. Walter Araújo pelas observações e análise da pesquisa.

Aos parceiros do Laboratório de Ecologia, Evolução e Biodiversidade (LEEBIO) no Instituto de Biologia e Laboratório do Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais (NuPpEn) no Instituto de Química, Henrique e Rafael, pelo auxílio no trabalho de campo e em laboratório.

À Souza Cruz, ao time de EHS e em especial à gestora de EHS Valéria Souza pelo incentivo e suporte para que o estudo pudesse ser feito conciliado ao exercício profissional.

À Universidade Federal de Uberlândia, CAPES, ao Instituto de Biologia e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais pela oportunidade na realização e conclusão desta tese de doutorado.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
RESUMO GERAL	xii
GENERAL ABSTRACT	xiii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
 CAPÍTULO 1 - Ecologia Química e interface com o Controle Biológico: uma revisão da literatura	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
1 - INTRODUÇÃO	13
1.1- Controle Biológico de Pragas.....	13
1.2- Inimigos naturais e o Controle Biológico de Pragas	13
1.3- Tipos de Controle Biológico	15
1.4- Controle Biológico e sua interface com Ecologia Química	17
2 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
 CAPÍTULO 2 - Atração de larvas do predador <i>Chrysoperla externa</i> (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) pelos voláteis emitidos por <i>Eucalyptus urograndis</i> (Myrtaceae) clone I144.....	25
RESUMO	26
ABSTRACT	27
1 – INTRODUÇÃO	28
2 – MATERIAIS E MÉTODOS	32
2.1 – Área do Estudo	32
2.2 – Criação de <i>Chrysoperla externa</i> e preparação para os ensaios	33
2.3 – Aquisição das plantas e preparação para os ensaios.....	34

2.4 – Ensaio de resposta olfativa.....	36
2.5 – Análise dos dados	38
3 – RESULTADOS.....	39
4 – DISCUSSÃO.....	41
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
CAPÍTULO 3 - Influência da herbivoria simulada na composição dos óleos essenciais de folhas jovens e maduras de <i>Eucalyptus urograndis</i> (Myrtaceae) clone I144.	52
RESUMO	53
ABSTRACT	54
1 – INTRODUÇÃO	55
2 – MATERIAIS E MÉTODOS	57
2.1 – Sistema de Estudo.....	57
2.2 – Extração do óleo essencial.....	58
2.3 – Análise dos dados	60
3 – RESULTADOS.....	62
4 – DISCUSSÃO.....	69
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	85
APÊNDICE A - Tabela da identificação dos compostos na folha nova sem injúria de <i>Eucalyptus urograndis</i> (Myrtaceae) clone I144.....	87
APÊNDICE B - Tabela da identificação dos compostos na folha madura sem injúria de <i>Eucalyptus urograndis</i> (Myrtaceae) clone I144.....	89
APÊNDICE C - Tabela da identificação dos compostos na folha nova com injúria de <i>Eucalyptus urograndis</i> (Myrtaceae) clone I144.....	91
APÊNDICE D - Tabela da identificação dos compostos na folha madura com injúria de <i>Eucalyptus urograndis</i> (Myrtaceae) clone I144.....	93

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Localização dos fornecedores de <i>Eucalyptus urograndis</i> do tipo I144 e de larvas de <i>Chrysoperla externa</i>	32
FIGURA 2 - Fluxograma de criação de <i>Chrysoperla externa</i> em laboratório.....	33
FIGURA 3 – Detalhe de larva de <i>Chrysoperla externa</i>	34
FIGURA 4 – Detalhes do perfurador utilizado para simulação da herbivoria (A) e das perfurações nas folhas de <i>Eucalyptus urograndis</i> (B).	35
FIGURA 5 - Sistema de olfatômetro em Y.....	36
FIGURA 6 - Diagrama esquemático do sistema de olfatômetro em Y.....	37
FIGURA 7 - Distribuição de frequências da escolha de larvas de <i>Chrysoperla externa</i>	39
FIGURA 8 – Tratamentos realizados nas folhas de <i>Eucalyptus urograndis</i> para extração do óleo essencial.....	58
FIGURA 9- Aparelho de Clevenger utilizado para extração do óleo essencial de <i>Eucalyptus urograndis</i>	59
FIGURA 10 - Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de <i>Eucalyptus urograndis</i> . Expansão (5,0 a 40,0 minutos) demonstrando maior concentração dos compostos 1 (Eucalyptol), 11 (α -Terpineol) e 21 (α -Terpinyl acetate). O eixo X representado pelo tempo de retenção em minutos, e o eixo Y, o percentual de TIC.	63
FIGURA 11 - Concentração (%) dos principais compostos encontrados no óleo essencial de <i>Eucalyptus urograndis</i>	66
FIGURA 12 - Composição (%) de compostos do óleo essencial de <i>Eucalyptus urograndis</i> que tiveram aumento da concentração na Folha Nova após a injúria.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados do teste de diferença da porcentagem de escolha pelo tratamento do olfatômetro em cada ensaio.....	39
Tabela 2 - Tempos de retenção dos alcanos utilizados para o cálculo do índice aritmético na análise por GC-EM.....	60
Tabela 3 - Rendimento do processo de extração do óleo essencial por hidrodestilação das folhas de <i>Eucalyptus. urograndis</i>	62
Tabela 4 – Tempo de retenção dos compostos obtidos pela extração do óleo essencial de folhas de <i>Eucalyptus urograndis</i> por CG-MS.....	62
Tabela 5 - Tabela de porcentagem de Cromatograma de Íons Totais (TIC = Total Ion Chromatogram) da composição química do óleo essencial de <i>Eucalyptus urograndis</i>	64
Tabela 6 - Tabela de variação da porcentagem de Cromatograma de Íons Totais (TIC = Total Ion Chromatogram) conforme a injúria dos componentes do óleo essencial de <i>Eucalyptus urograndis</i>	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-MS	Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas
IA	Índice aritmético
MIP	Manejo Integrado de Pragas
NIST	National Institute of Standard and Technology
OE	Óleo essencial
SI	Índice de Similaridade
TIC	Total ions chromatogram
TR	Tempo de retenção
UFU	Universidade Federal de Uberlândia

RESUMO GERAL

As plantas são capazes de produzir compostos voláteis, sinais químicos que lhe oferecem defesa contra agentes de stress e permitem a comunicação com o ambiente. Sabe-se que a herbivoria induz as plantas a produzir compostos voláteis que atraem os inimigos naturais, no entanto há poucos estudos que avaliam os efeitos diretos da relação entre as plantas e os predadores sem considerar a participação dos herbívoros. Esta avaliação pode trazer informações importantes para os estudos de interações ecológicas que fundamentam o desenvolvimento das estratégias de controle biológico de pragas. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivos: (i) verificar as respostas comportamentais de larvas de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) aos voláteis de folhas jovens e maduras, íntegras e com injúria de eucalipto *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae); (ii) investigar os compostos dos óleos essenciais desta espécie de eucalipto e seus efeitos sobre os insetos. Com a utilização do sistema de olfatômetro em “Y”, foi possível verificar as respostas do crisopídeo frente às combinações de odores emitidos pelas folhas de eucalipto. Os resultados dos testes de olfatometria evidenciaram que os insetos predadores respondem aos voláteis emitidos pelas plantas sem a participação de herbívoros nos experimentos. Ademais, foi observada a preferência das larvas de crisopídeo por odores emitidos por folhas novas com injúria simulada. O óleo essencial das folhas de eucalipto foi obtido por hidrodestilação com posterior identificação dos compostos através do Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas - CG-MS. Foram identificados compostos que outros estudos com a mesma espécie não haviam identificado. Dentre os compostos identificados, Eucaliptol, α -Terpineol e Aromadendrene possuem conhecida ação contra grupos de insetos, enquanto α -Terpinyl acetate tem ação atrativa a certos grupos de insetos. O trabalho contribuiu com dados básicos sobre o potencial de uso das florestas de eucalipto como mantenedoras de populações naturais de crisopídeo, e sugere novos estudos para avaliação dos componentes de óleo essencial que podem atuar como atrativos para estes insetos.

Palavras-chave: Herbivoria simulada; larva; eucaliptol; terpineol; ecologia química.

GENERAL ABSTRACT

Plants are capable of producing volatile compounds, chemical signals that offer defense against stress agents and allow communication with the environment. It is known that herbivory induces plants to produce volatile compounds that attract natural enemies, however there are few studies that evaluate the direct effects of the relationship between plants and predators without considering the participation of herbivores. This evaluation can provide important information for the study of ecological interactions that support the development of biological pest control strategies. In this context, the present work had as objectives: (i) to verify the behavioral responses of *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) larvae (Neuroptera: Chrysopidae) to the volatiles of young and mature leaves, intact and with eucalyptus injury *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae); (ii) investigate the compounds of the essential oils of this species of eucalyptus and their effects on insects. With the use of the “Y” olfactometer system, it was possible to verify the responses of the chrysopids to the combinations of odors emitted by the eucalyptus leaves. The results of the olfactometry tests showed that the predatory insects respond to the volatiles emitted by the plants without the participation of herbivores in the experiments. In addition, the preference of chrysopids larvae for odors emitted by new leaves with simulated injury was observed. The essential oil of the eucalyptus leaves was obtained by hydrodistillation with subsequent identification of the compounds through the gas chromatograph coupled to a mass spectrometer - CG-MS. Compounds were identified that other studies with the same species had not identified. Among the identified compounds, Eucaliptol, α -Terpineol and Aromadendrene have a known action against groups of insects, while α -Terpinyl acetate has an attractive action to certain groups of insects. The work contributed with basic data on the potential use of eucalyptus forests as maintainers of natural chrysopids populations, and suggests new studies to evaluate the essential oil components that can act as attractive to these insects.

Keywords: Simulated herbivory; larva; eucaliptol; terpineol; chemical ecology.

INTRODUÇÃO GERAL

Os produtos químicos nem sempre tiveram papel de destaque na produção de alimentos (HORNE & MCDERMOTT, 2001). Estes autores relatam que após o fim da Segunda Guerra Mundial, a indústria transformou as fábricas bélicas em indústrias de fertilizantes com nitrato de amônio e pesticidas, sendo em alguns casos produzidos a partir de restos de gás mostarda e agentes com efeito no sistema nervoso. A agricultura passou a fazer parte no que foi denominado “era química”. Como esses produtos químicos eram baratos, amplamente disponíveis e aumentavam a produção, a agricultura tornou-se totalmente dependente deles (HORNE & MCDERMOTT, 2001).

No pacote de modernização agrícola surgido após a Segunda Guerra Mundial, além dos produtos químicos foram adotadas práticas como os sistemas de produção baseados na monocultura, mecanização e irrigação intensiva que, embora tenham alavancado a produção de alimentos, possuem enorme custo ecológico e à saúde (AGUIAR MENEZES, 2003). Estas práticas causam desequilíbrio a todo o agroecossistema, tais como: contaminação dos solos e mananciais, elevado consumo de água, erosão, perda da diversidade da fauna e flora, ressurgimento e resistência de pragas (AGUIAR MENEZES, 2005; SANDA & SUNUSI, 2014).

Segundo Aguiar Menezes (2003), Lopes (2009) e Sá et al. (2016), a conscientização sobre os impactos à saúde e ao meio ambiente fizeram com que houvesse um ensejo social de mudança do padrão convencional para métodos integrados de produção menos danosos. Segundo estes autores, tal mudança implica no desafio atual da agricultura de manter a produtividade dos cultivos e simultaneamente melhorar a qualidade biológica (valor nutritivo), a sanidade dos alimentos (ausência de resíduos tóxicos) e conservar os recursos naturais de produção (solo, água, ar e organismos) para as futuras gerações. Neste sentido, o controle biológico de pragas constitui-se em um processo importante para atender a esta demanda (LOPES, 2009).

Controle biológico foi definido por DeBach (1964) como o estudo, importação, aumento e conservação de organismos benéficos para regular as densidades populacionais de outros organismos. Para Fisher et al. (1999), controle biológico é um processo em nível populacional, envolvendo o uso de populações inimigas naturais para suprimir populações alvo de pragas. Segundo Parra et al. (2002), é um fenômeno natural que consiste na regulação populacional de plantas e animais por inimigos naturais, os quais são antagonistas ou agentes de mortalidade biótica. Ainda segundo o autor, todas as espécies são controladas por algum

inimigo natural em algum estágio de sua vida e sabe-se que a ideia de que os insetos podem reduzir as populações de pragas remete à antiguidade.

Clausen (1956) e Sanda & Sunusi (2014) informam que desde o século III A.C., os chineses utilizavam predadores – formiga *Oecophylla smaragdina* (Fabr.) (Insecta: Hymenoptera: Formicidae) – para controlar lepidópteros desfolhadores e coleobrocas de citros, sendo considerado o primeiro registro da humanidade de uso de inimigos naturais para controle de pragas. A implantação do controle biológico de pragas de insetos no ocidente ocorreu bem mais tarde, por meio de uma proposta de Carl Linnaeus em 1772, sugerindo que insetos predadores fossem capturados e utilizados para desinfestação em plantas cultivadas (HÖRSTADIUS, 1974).

O primeiro caso de sucesso registrado da aplicação do controle biológico clássico foi com a introdução da joaninha *Rodolia cardinalis* (Mulsant), trazida da Austrália para conter o avanço do pulgão branco, *Icerya purchasi* Maskell na Califórnia, em 1888, cujo controle foi concretizado dois anos após a introdução (FLESCHNER, 1960; DOUTT, 1964, DEBACH, 1974; VAN DEN BOSCH et al., 1982; VAN DRIESCHE AND BELLOWS, 1996; PARRA et al., 2002).

Desde então, houve um notável avanço nesta área, sendo que entre 1890 e 1975, fossem registrados 176 casos de programas de controle biológico em diversos países, com sucesso parcial ou total. (STEHR, 1975; VAN DEN BOSCH et al., 1982; PARRA et al., 2002). Na década de 1920, teve início o primeiro projeto de criação em larga escala do besouro-da-índia *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) para controle da cochonilha *Pseudococcus calceolariae* Maskell (Hemiptera, Pseudococcidae), praga cítrica no sul da Califórnia (Luck e Forster, 2003). Segundo van Lenteren (2003), este besouro ainda é criado e comercializado nos dias atuais. Na década de 1960 há outro exemplo de sucesso em criação massal e comercialização de inimigos naturais no Reino Unido, com a utilização do parasitóide *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera, aphelinidae) para o controle de mosca-branca *Trialeurodes vaporariorum* (West.) (Hemiptera - Homoptera: Aleyrodidae) (PILKINGTON et al., 2010).

Apesar da comprovação de casos de sucesso, Lopes (2009) e Parra et al. (2002) afirmam que houve dificuldade da consolidação do controle biológico devido às técnicas de criação massal incipientes, ação lenta e com limitações, cujo efeito era mais aplicável apenas em culturas perenes ou semiperenes. Segundo estes autores, foi a partir do desenvolvimento do controle biológico aplicado, através de liberações massais dos agentes biológicos, e sua ação de resposta rápida e semelhante aos pesticidas convencionais, que tais desvantagens

foram aos poucos superadas e a metodologia passou a ter maior aceitação pelo produtor rural. Atualmente, a custos competitivos aos defensivos químicos, estão disponíveis inimigos naturais - parasitoides e predadores -, agentes microbianos, feromônios e diversos bioprodutos que conferem segurança à sua aplicação, possuem testes de eficiência validados e não impactam outros organismos, promovendo a manutenção de inimigos naturais no entorno das propriedades (LOPES, 2009; PARRA et al., 2002).

Fator relevante para a aplicabilidade de qualquer inimigo natural em programas de Controle Biológico é a sua capacidade de localizar a presa e o hospedeiro (PEÑAFLORES, 2010). Até a década de 80, acreditava-se que a localização de presas e hospedeiros era efetuada pelo contato e olfato dos inimigos naturais, principalmente por pistas químicas presentes no ambiente como: as escamas das asas, a seda produzida pelas lagartas, fezes e os feromônios (LEWIS, JONES & SPARKS, 1972; VINSON, 1976; LEWIS et al. 1979; NEALIS, 1986; AUGER et al., 1989). Porém, esses compostos são emitidos em quantidades muito pequenas quando considerada com a biomassa dos insetos, além de que os insetos herbívoros estão constantemente se adaptando para não serem detectados por seus inimigos naturais (DICKE & VAN LOON, 2000; PINTO-ZEVALLOS et al., 2013).

Price et al. (1980) e Dicke & Sabelis (1988), demonstraram que a localização geográfica das plantas possui forte influência sobre a biossíntese dos compostos voláteis que elas emitem quando são atacadas por herbívoros. Estes voláteis não só guiam os inimigos naturais rumo às plantas hospedeiras e, conseqüentemente, aos hospedeiros e às presas; como também atuam na mediação de inúmeras interações ecológicas com potencial para tornarem-se novas estratégias de controle de pragas, razão pela qual tem despertado o interesse da comunidade científica (PICKET et al., 2006).

Dentre as interações ecológicas promovidas pelos voláteis de plantas induzidos pela herbivoria, há a comunicação entre as plantas vizinhas, e a comunicação com os herbívoros através de ação repelente ou atraente (DE MORAES; MESCHER & TUMLINSON, 2001, ENGELBERTH et al., 2004; KESSLER & BALDWIN, 2001). Além dos insetos, estes voláteis também atuam sobre outros organismos como nematoides entomopatogênicos, plantas parasitas, pássaros e fungos entomopatogênicos (HOUNTONDJI et al., 2005; RASMANN et al., 2005; RUNYON; MESCHER; DE MORAES, 2006; MÄNTYLÄ et al., 2008). Está clara a importância que os sinais químicos possuem nas relações entre as espécies, atuando como atrativos ou repelentes e mediando interações entre indivíduos em processos que influenciam vários níveis de integração biológica, das moléculas aos ecossistemas (DICKE & TAKKEN, 2006).

Assim, com intuito de compreender as interações entre os inimigos naturais predadores e as plantas, este estudo focou no predador natural *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) e na espécie cultivar de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144. O primeiro capítulo possui o objetivo de apresentar uma revisão bibliográfica sobre a interface entre o controle biológico de pragas e a Ecologia Química. O segundo capítulo tem como objetivo verificar se os voláteis emitidos pelas folhas jovens e maduras do eucalipto, íntegras e com injúria influenciam no comportamento de escolha das larvas do crisopídeo. No terceiro e último capítulo foi verificado se há distinção entre os compostos do óleo essencial de folhas jovens e maduras, íntegras e com injúria do eucalipto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR MENEZES, E. de L. **Controle biológico de pragas: princípios e estratégias de aplicação em ecossistemas agrícolas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 44 p.

AUGER, J.; LECOMTE, C.; PARIS, J. & THIBOUT, E. **Identification of leek-moth and diamondback-moth frass volatiles that stimulate parasitoid, *Diadromus pulchellus***. Journal of Chemical Ecology, New York, v. 15, p. 1391-1398, 1989. <https://doi.org/10.1007/BF01014838>

CLAUSEN, C. P. **Biological control of insect pests in the continental United States**. Washington, USDA, 1956. 151p.

DEBACH, P. **Biological Control of Insect Pests and Weeds**. Chapman and Hall, London, 1964.

DE MORAES, C. M.; MESCHER, M.C. & TUMLINSON, J. H. **Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females**. Nature, London, v. 410, p. 577-580, 2001. <https://doi.org/10.1038/35069058>

DICKE, M. & TAKKEN, W. J. A. Chemical ecology: a multidisciplinary approach. In: **Chemical ecology: from gene to ecosystem**; DICKE, M. & TAKKEN, W., eds.; Springer: 2006, cap. 01. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5369-6>

DICKE, M. & VAN LOON, J. J. A. **Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context**. Entomologia experimentalis et applicata, v. 97, n. 3, p. 237-249, 2000. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2000.00736.x>

DICKE, M. & SABELIS, M.W. **How plants obtain predatory mites as bodyguards**. Netherlands Journal of Zoology, Leiden, v. 38, p. 148-165, 1988. <https://doi.org/10.1163/156854288X00111>

DOUTT, R. L. **The historical development of biological control**. In: DeBach, P. (Ed.), **Biological Control of Insect Pests and Weeds**. Chapman and Hall, London, pp. 21–42, 1964

ENGELBERTH, J.; ALBORN, H.T. & SCHMELZ, E.A.; TUMLINSON, J.H. **Airborne signals prime plants against insect herbivore attack**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, New York, v. 101, p. 1781-1787, 2004. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308037100>

FISHER, T. W., BELLOWS, T. S., CALTAGIRONE, L. E., DAHLSTEN, D. L., HUFFAKER, C. B., & GORDH, G. (Eds.). **Handbook of biological control: principles and applications of biological control**. Elsevier, 1999.

FLESchNER, C. A. **Parasites and predators for pest control**. In: Reitz, L.P. (Ed.), Biological and Chemical Control of Plant and Insect Pests. Am. Assoc. Adv. Science, Washington, pp. 183–199, 1960.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P; ZUCCHI, R.A. & ALVES, S.B. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1988, 531p.

HORNE, J. E. & MCDERMOTT, M. **The Next Green Revolution: essential steps to a healthy, sustainable agriculture**. New York: Food Products Press, 312 p. 2001.

HÖRSTADIUS, S. **Linnaeus, animals and man**. Biological journal of the Linnean Society, 6(4), 269-275, 1974. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1974.tb00725.x>

HOUNTONDJI, F.C.C.; SABELIS, M. W.; HANNA, R. & JANSSEN, A. **Herbivore-induced plant volatiles trigger sporulation in entomopathogenic fungi: the case of *Neozygites tanajoae* infecting the cassava green mite**. Journal of Chemical Ecology, New York, v. 31, p. 1003-1021, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-4244-2>

KESSLER, A. & BALDWIN, I.T. **Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature**. Science, Washington, v. 291, p. 2141-2144, 2001. <https://doi.org/10.1126/science.291.5511.2141>

LEWIS, W. J.; JONES, R. L. & SPARKS, A. N. **A host-seeking stimulant for the egg parasite *Trichogramma evanescens*. Its source and a demonstration of its laboratory and field activity.** Annals of Entomological Society of America, Lanham, v. 65, p. 1087-1089, 1972. <https://doi.org/10.1093/aesa/65.5.1087>

LEWIS W.J.; BEEVERS, M.; NORLUND, D.A.; GROSS JR, H.R. & HAGEN, K.S. **Kairomones and their use for management of entomophagus insects.** IX. Investigations of various kairomone treatment patterns for *Trichogramma* spp. Journal of Chemical Ecology, New York, v. 5, p. 673-680, 1979. <https://doi.org/10.1007/BF00986552>

LOPES, R. B. **A indústria no Controle Biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil.** In: BETTIOL, W., MORANDI, M. A. B. (Orgs.). Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. cap. 2, p. 15-29.

LUCK, R. F. & FORSTER, L. D. **Quality of augmentative biological control agents: a historical perspective and lessons learned from evaluating *Trichogramma*.** In: van Lenteren, J.C. (Ed.), Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures. CABI, Wallingford, UK, pp. 231–246, 2003. <https://doi.org/10.1079/9780851996882.0231>

MÄNTYLÄ , E.; ALESSIO, G.A.; BLANDE, J.D.; HEIJARI,J.; HOLOPAINEN, J.K.; LAAKSONEN, T.; PIIRTOLA, P. & KLEMOLA, T. **From plants to birds: higher avian predation rates in trees responding to insect herbivory.** PLOS ONE, San Francisco, v. 3, p. 1-8, 2008. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002832>

NEALIS, V. G. **Responses to host kairomones and foraging behavior of the insect parasite *Cotesia rubecula* (Hymenoptera, Braconidae).** Canadian Journal of Zoology, Ottawa, v. 64, p. 2393-2398, 1986. <https://doi.org/10.1139/z86-357>

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. (Editores). **Controle Biológico: Terminologia.** In: **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores.** São Paulo: Manole, 2002. cap. 1, p. 1-16

PEÑAFLORES, M. F. G. V. **Interações planta-herbívoros-parasitóides de ovos mediadas por voláteis de milho (*Zea mays* L.) e odores da *Spodoptera frugiperda* (JE Smith).** 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PICKETT, J. A.; BRUCE, T. J.; CHAMBERLAIN, K.; HASSANALI, A.; KHAN, Z. R.; MATTHES, M. C.; NAPIER, J. A.; SMART, L. E.; WADHAMS, L. J. & WOODCOCK, C. M. In: **Chemical ecology: from gene to ecosystem**; DICKE, M.; TAKKEN, W., eds.; Springer: 2006, cap. 11.

PILKINGTON, L.J., MESSELINK, G., VAN LENTEREN, J.C. & LE MOTTEE, K. **Protected biological control biological pest management in the greenhouse industry.** Biol. Control 52, 216–220, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.05.022>

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; MARTINS, C. B. C.; PELLEGRINO, A. C. & ZARBIN, P. H. G. **Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros.** Química Nova, v.36, n.9, p.1395-1405, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000900021>

PRICE, P. W.; BOUTON, C. E.; GROSS, P.; MCPHERON B. A. & THOMPNDON J. N; WEIS A. E. **Interactions among three trophic levels: influence of plantas o interactions between insect herbivores and natural enemies.** Annual Review of Ecology and Systematics, v.11, p.41-65, 1980. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.11.110180.000353>

RASMANN, S.; KÖLLNER, T.G.; DEGENHARDT, J.; HILTPOLD, I.; TOEPFER, S.; KUHLMANN, U.; GERSHENZON, J. & TURLINGS, T.C.J. **Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots.** Nature, London, v. 434, p. 732-737, 2005. <https://doi.org/10.1038/nature03451>

RUNYON, J.B.; MESCHER, M.C. & DE MORAES, C.M. **Volatile chemical cues guide host location and host selection by parasitic plants.** Science, Washington, v. 313, p. 1964-1967, 2006. <https://doi.org/10.1126/science.1131371>

SÁ, L. A. N. D; PESSOA, M. C. P. Y; MORAES, G. J. D.; MARINHO-PRADO J. S.; PRADO S. D. S. & VASCONCELOS, R. M. D. **Quarentine facilities and legal issues of the**

use of biocontrol agents in Brazil. Pesquisa Agropecuária Brasileira 51(5): 502-509, 2016.
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500010>

SANDA, N. B. & SUNUSI, M. **Fundamentals of biological control of pests.** IJCBS Review Paper. vol. 1, issue 6, September, p. 1-11, 2014.

STEHR, F. W. **Parasitoids and predators in pest management**, p.147-183. In METCALF, R.L. & LUCKMANN W. H. (eds.). Introduction to insect pest management. New York, Wiley Interscience, 587p, 1975.

VAN DEN BOSCH, R.; MESSENGER, P. S. & GUTIERREZ, A. P.,. **An Introduction to Biological Control.** Plenum Press, New York, USA, 1982. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9162-4>

VAN DRIESCHE, R. G. & BELLOWES JR., T. S., **Biological Control.** Chapman and Hall, New York, 1996. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-1157-7>

VAN LENTEREN, J. C. **Commercial availability of biological control agents.** In: van Lenteren, J.C. (Ed.), Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures. CABI, Wallingford, UK, pp. 167–179, 2003.
<https://doi.org/10.1079/9780851996882.0167>

VINSON, S. B. **Host selection by insect parasitoids.** Annual Review of Entomology, Palo Alto, v. 21, p. 109-134, 1976. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.21.010176.000545>

CAPÍTULO 1 - Ecologia Química e interface com o Controle Biológico: uma revisão da literatura

RESUMO

Com o crescimento da população mundial e consequente demanda por produtos agrícolas, é necessário que os sistemas produtivos sejam eficientes e, ao mesmo tempo, sustentáveis, minimizando os impactos ambientais. Neste contexto, o Controle Biológico de Pragas é elemento-chave para programas de Manejo Integrado de Pragas, e deve ser utilizado com o objetivo de reduzir ou eliminar o uso de pesticidas nos agroecossistemas. Controle Biológico Clássico, Natural e Aplicado são as três estratégias utilizadas conforme as especificidades locais e demanda de controle. Controle Biológico Clássico é realizado por meio da introdução de inimigos naturais de um país para outro ou de uma região para outra muito distante. O Controle Biológico Natural estimula a manutenção natural e permanente dos inimigos naturais através da manipulação do ambiente. O Controle Biológico Aplicado utiliza liberações inundativas de inimigos naturais, ou seja, em grande quantidade. Os inimigos naturais são os agentes de controle natural, organismos tais como insetos ou patógenos, com hábitos de predação, parasitismo ou patogenia. Das interações inseto-inseto existentes, a predação é a mais comum e aplicável em programas de Controle Biológico. Para uso dos inimigos naturais adequados, são necessários estudos básicos sobre a interação entre as plantas, herbívoros e inimigos naturais. Ecologia Química é a ciência que combina áreas como química, entomologia, botânica e biologia molecular para ampliar o conhecimento sobre os compostos orgânicos voláteis e óleos essenciais produzidos pelas plantas. O conhecimento de suas funções ecológicas e seus efeitos nas interações planta-inseto é possível explorar de forma racional os processos naturais e minimizar a aplicações de pesticidas nos agroecossistemas, contribuindo com a sustentabilidade do meio ambiente.

Palavras chave: Predação, voláteis, manejo integrado de pragas.

ABSTRACT

With the growth of the world population and the consequent demand for agricultural products, it is necessary that the productive systems are efficient and, at the same time, sustainable, minimizing the environmental impacts. In this context, Biological Pest Control is a key element for Integrated Pest Management programs, and should be used in order to reduce or eliminate the use of pesticides in agroecosystems. Classic, Natural and Applied Biological Control are the three strategies used according to local specificities and demand for control. Classic Biological Control is carried out by introducing natural enemies from one country to another or from a region to a very distant one. Natural Biological Control encourages the natural and permanent maintenance of natural enemies through manipulation of the environment. Applied Biological Control uses flooding releases from natural enemies, that is, in large quantities. Natural enemies are natural control agents, organisms such as insects or pathogens, with habits of predation, parasitism or pathogenesis. Of the existing insect-insect interactions, predation is the most common and applicable in Biological Control programs. For the use of suitable natural enemies, basic studies on the interaction between plants, herbivores and natural enemies are necessary. Chemical Ecology is the science that combines areas such as chemistry, entomology, botany and molecular biology to increase knowledge about volatile organic compounds and essential oils produced by plants. Knowledge of their ecological functions and their effects on plant-insect interactions makes it possible to rationally explore natural processes and minimize the application of pesticides in agroecosystems, contributing to the sustainability of the environment.

Keywords: Predation, volatiles, integrated pest management

1 - INTRODUÇÃO

1.1- Controle Biológico de Pragas

Em estudo realizado pela United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2019) foi divulgado que a população mundial atingiu a quantia de 7,7 bilhões de pessoas em meados de 2018 e estima-se que será alcançada a marca de 8,5 bilhões de habitantes até 2030. Baker et al. (2020) advertem sobre a consequente elevação da demanda de alimentos e necessidade para que os sistemas de produção agrícola atendam à população e mantenham a integridade ambiental.

Grande parte das tecnologias agrícolas que aumentam a produtividade acabam impactando negativamente o meio ambiente. Por isso o foco deve ser direcionado à agricultura produtiva e ecologicamente correta, com práticas que sejam estáveis, resilientes, sustentáveis e, ao mesmo tempo, produtivas (BAKER et al., 2020).

Das alternativas sustentáveis existentes, Garcia-Valcárcel et al. (2019) definem o Manejo Integrado de Pragas (MIP) como uma combinação de estratégias para minimização dos danos com base em informações abrangentes sobre as pragas, sua interação com o ambiente e os métodos de controle disponíveis. Ao invés de tentar erradicar as pragas, o MIP se esforça para impedir o desenvolvimento e a redução de sua população a níveis que minimizem os riscos à saúde humana e ao meio ambiente (Garcia-Valcárcel et al., 2019).

Baker et al. (2020) ressaltam que o controle biológico, elemento-chave do MIP, é uma oportunidade ecologicamente sólida nos sistemas de agricultura orgânica e convencional, tática baseada em testes científicos, economicamente viável e que leva à redução na dependência de pesticidas. Hoddle & Van Driesche (2009) definem controle biológico como uma técnica de controle que utiliza organismos vivos para reduzir a densidade de pragas. Possui base ecológica, pois parte do conhecimento das interações tróficas e utiliza um tipo de organismo, os "inimigos naturais", para controlar outro, a "praga" (HODDLE & VAN DRIESCHE, 2009).

1.2- Inimigos naturais e o Controle Biológico de Pragas

Mariano et al. (2005) e Sanda & Sunusi, (2014) definem os inimigos naturais ou agentes de controle biológico como organismos, tais como insetos ou doenças de plantas, utilizados para controlar as espécies de pragas, reduzindo sua densidade populacional.

Segundos estes autores, os inimigos naturais incluem os patógenos, parasitoides – também chamados de entomófagos - e predadores. Patógenos são os organismos microscópios tais como vírus, fungos e bactérias que vivem e se multiplicam em um hospedeiro, causando-lhe desequilíbrio fisiológico e, muitas vezes, a morte (GASSEN, 1986).

Parra et al. (2002) define parasito como organismo menor que o hospedeiro e que pode completar seu ciclo de vida em um único hospedeiro, possuir vida livre e não parasitar durante parte de sua vida ou possuir um ciclo de vida relacionado a diversas espécies hospedeiras. Tênia, piolhos, pulgas e pernilongos são exemplos de parasitos. Os parasitoides, segundo o mesmo autor, possuem adultos de vida livre, larvas de mesmo tamanho do hospedeiro, mata este e exige apenas um indivíduo para completar seu desenvolvimento. *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) são vespas que depositam seus ovos no interior de ovos de Lepidoptera. Vinson (1997) descreve que o parasitoide não mata imediatamente seu hospedeiro, podendo permanecer como parasito por períodos variáveis. Segundo o autor, ao final o hospedeiro é morto e pode ser considerado como um recipiente para o desenvolvimento do parasitoide.

Predadores são organismos de vida livre durante todo o seu ciclo e que utilizam mais de uma presa como fonte de recursos para completar o seu desenvolvimento (BERTI FILHO & MACEDO, 2010). Segundo estes autores, a predação é a interação inseto-inseto mais comum dentre as interações aplicáveis ao Controle Biológico, sendo conhecidas 23 ordens de insetos com espécies predadoras, enquanto que apenas cinco realizam parasitoidismo. Vinson (1997) descreve que após o ataque e a captura bem sucedida, a presa é morta pelo predador, consumida e o fluxo gênico da presa para a própria geração é interrompido. Ainda segundo este autor, a evolução entre predador - presa envolve aspectos como localização, ataque, camuflagem, fuga e defesa.

Segundo Berti Filho & Macedo (2010), quanto ao hábito alimentar, os predadores são divididos em mastigadores tais como Carabidae e Coccinellidae, pois consomem a presa totalmente, e sugadores, a exemplo de Chrysopidae e Syrphidae, que sugam os fluidos da presa. Quanto ao número de espécies de presas atacadas, estes autores classificam os predadores em monófagos quando possuem alta especificidade, a exemplo de *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) que preda apenas a cochonilha *Icerya purchasi* Maskell (Hemiptera: Margarodidae); estenófagos quando consomem um número restrito de espécies, tais como Coccinellidae e Syrphidae que predam apenas pulgões; e oligófagos quando consomem várias espécies, a exemplo de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae).

1.3- Tipos de Controle Biológico

De acordo com Berti Filho & Macedo (2010) e Parra et al. (2002) existem três estratégias distintas no controle biológico de pragas. A primeira, controle biológico clássico, por meio da introdução de inimigos naturais de um país para outro ou de uma região para outra muito distante (BERTI FILHO & MACEDO, 2010). O objetivo desta estratégia é encontrar inimigos naturais úteis, introduzi-los na área da praga alvo e promover seu estabelecimento permanente, de modo a fornecer controle contínuo de pragas com pouca ou nenhuma intervenção humana adicional (SANDA & SUNUSI, 2014). As liberações para esse tipo de controle são inoculativas (pequeno número de insetos) e o controle é alcançado em longo prazo, pois a população dos inimigos naturais tende a aumentar com o passar do tempo e, por isso é aplicável somente a culturas semiperenes ou perenes (PARRA et al., 2002). Naranjo et al. (2015) relata o registro de aproximadamente 5.000 inimigos naturais introduzidos em 200 países para o controle de 400 pragas na estratégia do Controle Biológico Clássico.

O segundo tipo de estratégia é o controle biológico natural, que estimula a manutenção natural e permanente dos inimigos naturais através da manipulação do ambiente como: uso de pesticidas seletivos, dosagens adequadas e em épocas corretas, manutenção de habitat ou fontes de alimentação para inimigos naturais, dentre outras (BERTI FILHO & MACEDO, 2010). Das estratégias existentes, do ponto de vista ecológico, é clara a importância do Controle Biológico Natural, também chamado de Conservativo, pois se estimula a manutenção dos inimigos naturais na área e entorno (PARRA et al., 2002). No entanto, Jonsson et al. (2008) enfatiza que o conhecimento da ecologia dos inimigos naturais e das comunidades ecológicas das quais fazem parte é fundamental. Segundo este autor, de posse deste conhecimento, é possível atrair e manter os inimigos naturais através da disponibilização de néctar, pólen, “honeydew” e abrigo, por exemplo. Os voláteis emitidos pelas plantas atacadas por herbívoros, ou até mesmo por plantas intactas também podem ser utilizados como fonte de atração (JONSSON et al., 2008).

A última estratégia é o controle biológico aplicado, que utiliza liberações inundativas, em grande quantidade, de agentes de controle, após a criação massal em laboratório e visa à redução rápida da população da praga para seu nível de equilíbrio (PARRA et al., 2002). Segundo estes autores, esse tipo de controle biológico é bem visto pelo produtor rural, pois tem um tipo de ação rápida, muito semelhante à de inseticidas convencionais. No mercado do

controle biológico aplicado, segundo Hunter (1997), Cock et al. (2010) e Naranjo et al. (2015), estima-se que aproximadamente 230 espécies de inimigos naturais, cerca de metade predadores e metade parasitoides, estejam disponíveis para comercialização por cerca de 500 fornecedores. Segundo Naranjo et al. (2015), estes números não abrangem as iniciativas financiadas pelo governo na China, no México e em vários países da América do Sul.

Segundo van Lenteren (2000), esta estratégia de controle é utilizada em mais de 17 milhões de hectares em todo o mundo. As biofábricas de criação de inimigos naturais podem ser empresas comerciais, ligadas à cooperativas de produtores rurais ou vinculadas ao governo (COCK et al., 2010).

O sucesso do controle biológico aplicado deve-se principalmente ao aumento da quantidade de biofábricas produtoras de cerca de 20 espécies das vespas parasitoides do gênero *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae), para liberação inundativa contra pragas de lepidópteros da agricultura e silvicultura (Li, 1994; Smith, 1996; van Lenteren, 2003; van Lenteren e Bueno, 2003). As possíveis causas desta expansão de biofábricas de *Trichogramma* spp. são devidas a relativa facilidade de criação e baixo custo de investimento e manutenção, combinada ao fato da vespa eliminar seus hospedeiros ainda na fase de ovo, impedindo lesões nas culturas e atraindo o uso pelo produtor rural (WAJNBERG e HASSAN, 1994).

Previamente às liberações inundativas de inimigos naturais são realizados estudos para determinar a viabilidade de sua aplicação, porém, devido as especificidades locais de cada área de aplicação, também deveriam ser feitas avaliações dos efeitos a curto-prazo. Há preocupação quanto aos impactos ecológicos desta estratégia, pois geralmente não ocorrem restrições rígidas pelas instituições governamentais e nem avaliações minuciosas dos efeitos em espécies não alvo, havendo maior controle apenas quando há o liberação de espécies exóticas (LYNCH & THOMAS, 2000; KUSKE et al., 2003; VAN LENTEREN et al., 2006; ORR & LAHIRI, 2014).

Por exemplo, uma empresa local da Nova Zelândia enfrentou processo criminal por não seguir as normas nacionais que regulam espécies exóticas pela importação, produção e venda do inseto predador, *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae) (NEW ZEALAND PRESS ASSOCIATION, 2010). Há um registro de liberação inundativa causadora de danos econômicos e ecológicos (BROWN et al., 2008; KOCH & GALVAN, 2008). Segundo estes autores, o besouro *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera, Coccinellidae), foi liberado em aplicações de controle biológico, estabelecendo-se na Europa Ocidental e na América do Norte, onde, apesar de contribuir para o manejo de pragas em

algumas culturas, por tratar-se de espécie exótica, resultou em impactos negativos na produção de frutas e vinhos e em artrópodes não alvo que superaram os seus benefícios. Segundo Sheppard & Raghu (2005) e Cock et al. (2010), com o aumento das barreiras regulatórias e administrativas, somado ao receio dos tomadores de decisão e da sociedade, os inimigos naturais exóticos que representavam 58% das espécies comercializadas, passaram para 24% nos últimos 50 anos na Europa.

Também há preocupação quanto às liberações inundativas de espécies nativas, quando as criações em laboratório não atendem a requisitos de qualidade (BJØRNSON, 2008; SAITO & BJØRNSON, 2008). Estes autores relatam que o predador *Hippodamia convergens* Guérin-Meneville (Coleoptera: Coccinellidae) pode conter um número significativo de indivíduos parasitados ou infectados com patógenos, podendo resultar em aumento do parasitismo ou transmissão de patógenos às populações locais de besouros, na América do Norte. Outra preocupação quanto à liberação inundativa de inimigos naturais nativos é quanto à possível contaminação genética, a ponto de que os estudos filogenéticos não sejam capazes de caracterizar com precisão as populações naturais originais (DUBOIS, 2008).

1.4- Controle Biológico e sua interface com Ecologia Química

Em seu estudo sobre a história das pesquisas sobre os metabólitos secundários, Hartmann (2008) relata que ideias sobre o papel dos compostos químicos nas interações entre espécies surgiram durante a segunda metade do século XIX.

A ecologia química, enquanto ciência, data do final da década de 1950, quando os entomologistas evolucionários reconheceram o papel essencial dos metabólitos secundários das plantas nas interações planta-inseto e sugeriram que a diversidade química das plantas evoluiu sob a pressão de seleção dos herbívoros (EHRlich & RAVEN, 1965; HARTMANN, 2008). Em sua obra de revisão bibliográfica, Pinto-Zevallos et al. (2013) definem a Ecologia Química como ciência que estuda os compostos químicos - "sinais" - conhecidos como semioquímicos, envolvidos nas interações entre organismos vivos.

Pesquisas em ecologia química têm permitido a ampliação do conhecimento no papel dos voláteis, suas funções ecológicas e a sua importância visando o controle de pragas ao combinar áreas como a Química, a Entomologia, a Botânica, a Biologia Molecular, dentre outras (PINTO-ZEVALLOS et al., 2013). Os experimentos geralmente são realizados com sistemas de olfatômetros, dispositivos utilizados para detectar a resposta de insetos a odores. Tradicionalmente, os olfatômetros são dispositivos tubulares em forma de "Y", onde os

insetos escolhem entre duas fontes de fluxo de ar que se misturam (BALLHORN & KAUTZ, 2013). Segundo estes autores, o ar é passado sobre uma fonte estimulante em potencial, e os insetos são induzidos a se mover contra o vento em direção à fonte, fazendo uma escolha ou escolhas ao longo do caminho para verificar se o odor, não apenas o movimento ou a umidade do ar está fornecendo o estímulo.

Em seus estudos de olfatometria, Lewis et al. (1977) demonstraram que as larvas predadoras de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) são capazes de localizar as presas graças à presença de cairomônios, produtos químicos voláteis emitidos pelo “honeydew” excretado por pulgões e pelas escamas do lepidóptero *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). Resende, Ferreira e Souza (2015) identificaram, através de sistemas de olfatômetros, que odores de coentro e erva-doce atraem os adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae), dependendo do tempo após a semeadura das plantas e da condição virgem ou acasalada dos insetos. Canard (2001) descreve que após a localização, os predadores realizam a identificação da presa pelo contato dos palpos e/ou pelas antenas, seguida pela sondagem das mandíbulas e reconhecimento positivo quimiossensorial. Em sequência são realizadas as etapas de captura, sucção, limpeza dos componentes bucais e repouso pós-prandial (CANARD, 2001).

Khan et al. (2008) reforçam sobre a importância da ciência básica e a compreensão da ecologia química das interações entre plantas, pragas e inimigos naturais. Segundo este autor, através de estudos químicos e comportamentais é possível explorar de forma racional os processos naturais e minimizar a aplicações de pesticidas, a fim de contribuir com a sustentabilidade ambiental.

2 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALLHORN, D. J. & KAUTZ, S. **How useful are olfactometer experiments in chemical ecology research?** Communicative & integrative biology, v. 6, n. 4, p. e55602, 2013. <https://doi.org/10.4161/cib.24787>

BAKER, B. P.; GREEN, T. A. & LOKER, A. J. **Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems.** Biological Control, 140: 104095, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104095>

BERTI FILHO, E & MACEDO, L.P.M. **Fundamentos de controle biológico de insetos-praga.** Natal: IFRN Editora, 2010. 108p.

BJØRNSON, S. **Natural enemies of the convergent lady beetle, *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville: their inadvertent importation and potential significance for augmentative biological control.** Biol. Control. 44, 305–311, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.10.001>

BROWN, P.; ADRIAENS, T.; BATHON, H.; CUPPEN, J.; GOLDARAZENA, A.; HÄGG, T.; KENIS, M.; KLAUSNITZER, B.; KOVÁŘ, I.; LOOMANS, A.; MAJERUS, M.; NEDVĚD, O.; PEDERSEN, J.; RABITSCH, W.; ROY, H.; TERNOIS, V.; ZAKHAROV-GEZEKHUS, I. & ROY, D. B. ***Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid.** BioControl 53, 5–21, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10526-007-9132-y>

CANARD, M. **Natural food and feeding habits of lacewings.** In: MCEWEN, P.; NEW, T. R.; WHITTINGTON, A. E. (Ed.). Lacewings in the crop environment. Cambridge: Cambridge University, p. 116-129, 2001. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511666117.007>

COCK, M. J.; VAN LENTEREN, J. C.; BRODEUR, J.; BARRATT, B. I.; BIGLER, F.; BOLCKMANS, K.; CÔNSOLI, F. L.; HAAS, F.; MASON, P. G. & PARRA, J. R. P. **Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity**

threaten the future of biological control?. BioControl, 55(2), 199-218,2010.
<https://doi.org/10.1007/s10526-009-9234-9>

DUBOIS, A. **The notion of biotic pollution: faunistic, floristic, genetic and cultural pollutions.** Bull. Soc. Zool. France 133, 357–382, 2008.

EHRlich, P. R. & RAVEN, P. H. **Butterflies and plants: a study in coevolution.** Evolution, v. 18, n. 4, p. 586-608, 1964. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1964.tb01674.x>

GARCÍA-VALCÁRCEL, A. I.; MARTÍNEZ-FERRER, M. T.; CAMPOS-RIVELA, J. M. & GUIL, M. D. H. **Analysis of pesticide residues in honeybee (*Apis mellifera* L.) and in corbicular pollen. Exposure in citrus orchard with an integrated pest management system.** Talanta, v. 204, p. 153-162, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.106>

GASSEN, D. N. **Parasitos, patógenos e predadores de insetos associados a cultura do trigo.** Embrapa Trigo-Circular Técnica (INFOTECA-E), 1986.

HARTMANN, T. **The lost origin of chemical ecology in the late 19th century.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 105, n. 12, p. 4541-4546, 2008.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0709231105>

HODDLE, M. S. & VAN DRIESCHE, R. G. **Biological control of insect pests.** In Encyclopedia of Insects (pp. 91-101). Academic Press, 2009. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374144-8.00033-3>

HUNTER, C. D. **Suppliers of Beneficial Organisms in North America.** Publication PM 97-01. California Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA, 1997.

JONSSON, M.; WRATTEN, S. D.; LANDIS, D. A. & GURR, G. M. **Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods.** Biological Control, Orlando, v. 45, p. 172-175, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.006>

KHAN, Z. R., JAMES, D. G., MIDEGA, C. A., & PICKETT, J. A. **Chemical ecology and conservation biological control**. *Biological control*, 45(2), 210-224, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.11.009>

KOCH, R. L. & GALVAN, T. L. **Bad side of a good beetle: the North American experience with *Harmonia axyridis***. *BioControl* 53, 23–35, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10526-007-9121-1>

KUSKE, S.; WIDMER, F.; EDWARDS, P. J.; TURLINGS, T. C. J.; BABENDREIER, D. & BIGLER, F. **Dispersal and persistence of mass released *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in non-target habitats**. *Biol. Control* 27, 181–193, 2003. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00191-3](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00191-3)

LEWIS, W. J.; NORDLUND, D. A.; GROSS-JUNIOR, H. R.; JONES, R. L. & JONES, S. L. **Kairomones and their use for management of entomophagous insects V: moth scales as a stimulus for predation of *Heliothis zea* (Boddie) eggs by *Chrysopa carnea* Stephens larvae**. *Journal of Chemical Ecology*, v. 3, p. 483-487, 1977. <https://doi.org/10.1007/BF00988191>

LI, L. Y. **Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: a survey**. In: Wajnberg, E., Hassan, S.A. (Eds.), *Biological Control With Egg Parasitoids*. CABI, Wallingford, UK, 1994.

LYNCH, L. D. & THOMAS, M. B. **Nontarget effects in the biocontrol of insects with insects, nematodes and microbial agents: the evidence**. *Biocontrol News Inform.* 21 (4), 117–130, 2000.

MARIANO, R. L. R; SILVEIRA, E. B. & GOMES, A. M. A. **Controle Biológico de Doenças Radiculares**. In: MICHEREFF, S. J. et al. (Orgs.). *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais*. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. cap. 12, p. 303-322.

NARANJO, S. E.; ELLSWORTH, P. C. & FRISVOLD, G. B. **Economic value of biological control in integrated pest management of managed plant systems.** Annual Review of Entomology, n. 60, p. 621–645, 2015. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021005>

NEW ZEALAND PRESS ASSOCIATION. **Scientist illegally imported insect.** New Zealand Herald, Auckland, New Zealand, August 10, 2010.

ORR, D. & LAHIRI, S. **Biological control of insect pests in crops.** In Integrated Pest Management (pp. 531-548). Academic Press, 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398529-3.00028-2>

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M.(Editores). Controle Biológico: Terminologia. In: **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores.** São Paulo: Manole, 2002. cap. 1, p. 1-16

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; MARTINS, C. B. C.; PELLEGRINO, A. C.; ZARBIN, P. H. G. **Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros.** Química Nova, v.36, n.9, p.1395-1405, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000900021>

RESENDE, A. L. S.; FERREIRA, R. B.; SOUZA, B. **Atratividade de adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) aos compostos voláteis de coentro, endro e erva-doce (Apiaceae) em condições de laboratório.** Revista Ceres, v. 62, n. 1, p.37-43, 2015. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201562010005>

SAITO, T. & BJØRNSON, S. **Effects of a microsporidium from the convergent lady beetle, *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville (Coleoptera: Coccinellidae), on three non-target coccinellids.** J. Invertebr. Pathol. 99, 294–301, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.08.005>

SANDA, N. B., SUNUSI, M. **Fundamentals of biological control of pests.** IJCBS Review Paper. vol. 1, issue 6, September, p. 1-11, 2014.

SHEPPARD, A.W.& RAGHU, S. **Working at the interface of art and science: How best to select an agent for classical biological control?** Biol. Control 34, 233–235, 2005.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.05.005>

SMITH, S. M. **Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use.** Annu. Rev. Entomol. 41, 375–406, 1996.
<https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.002111>

UNITED NATIONS, DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS, POPULATION DIVISION. **World Population Prospects 2019: Highlights**, 2019.

VAN LENTEREN, J. C. **Measures of success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies.** In: Gurr, G., Wratten, S. (Eds.), Measures of Success in Biological Control. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 77–103, 2000.
https://doi.org/10.1007/978-94-011-4014-0_3

VAN LENTEREN, J. C. **Need for quality control of mass-produced biological control agents.** In: van Lenteren, J.C. (Ed.), Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures. CABI, Wallingford, UK, pp. 1–18, 2003.
<https://doi.org/10.1079/9780851996882.0001>

VAN LENTEREN, J. C. & BUENO, V. H. P. **Augmentative biological control of arthropods in Latin America.** BioControl 48, 123–139, 2003.
<https://doi.org/10.1023/A:1022645210394>

VAN LENTEREN, J. C.; BALE, J. S.; BIGLER, F.; HOKKANEN, H. M. T.; LOOMANS, A. J. M., 2006. **Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests.** Ann. Rev. Entomol. 51, 609–634.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151129>

VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae, p.67-119. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, Fapesp, Fealq, 1997. 324p.

WAJNBERG, E.& HASSAN, S.A. (Eds.). **Biological Control with Egg Parasitoids**. CABI, Wallingford, UK., 304p, 1994.

**CAPÍTULO 2 - Atração de larvas do predador *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861)
(Neuroptera: Chrysopidae) pelos voláteis emitidos por *Eucalyptus urograndis*
(Myrtaceae) clone I144.**

RESUMO

No Brasil, a área plantada por eucalipto corresponde a 5,7 milhões de hectares sendo Minas Gerais o estado com maior área (24,5%). O inseto *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) é um predador com larga distribuição geográfica e variedade de habitats, alimentando-se de uma variedade de artrópodes, incluindo ácaros e afídeos, vários deles considerados como praga para florestas de eucalipto. Buscou-se com este estudo avaliar as respostas comportamentais de larvas de *C. externa* aos voláteis de folhas de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144. Foram utilizadas mudas jovens de eucalipto, com aproximadamente 70 dias de idade, cujas folhas foram perfuradas para simulação da herbivoria. Foram utilizadas larvas de crisopídeo com sete dias de idade. As respostas comportamentais foram mensuradas em sistema de olfatômetro em "Y". Os resultados obtidos indicam que as larvas de crisopídeo demonstram comportamento de escolha quando em contato com compostos orgânicos voláteis emitidos pelas folhas de eucalipto. O resultado encontrado é importante, pois contribui para a compreensão de que os insetos predadores respondem aos voláteis emitidos pelas plantas sem a participação de herbívoros. A larva de crisopídeo teve preferência de escolha por odores emitidos por folhas novas com injúria. Herbívoros possuem preferência pelas folhas jovens por estas possuírem maior quantidade de nutrientes e menos celulose. A demonstração de variação entre os voláteis de folhas jovens e maduras já havia sido demonstrada por outros trabalhos, inclusive que as folhas novas produzem maior produção de metabólitos secundários. Os resultados encontrados sugerem a existência de compostos e/ou concentrações de compostos diferentes entre as folhas jovens e maduras, responsáveis por influenciar o comportamento de escolha destes insetos predadores.

Palavras chave: Olfatômetro, inimigos naturais, controle biológico, manejo integrado

ABSTRACT

In Brazil, the area planted by eucalyptus corresponds to 5,7 million hectares, Minas Gerais being the state with the largest area (24,5%). The insect *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) is a predator with a wide geographic distribution and variety of habitats, feeding on a variety of arthropods, including mites and aphids, several of which are considered a pest for eucalyptus forests. This study sought to evaluate the behavioral responses of *C. externa* larvae to the volatile leaves of *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144. Young eucalyptus seedlings, approximately 70 days old, were used, whose leaves were perforated to simulate herbivory. Chrysopid larvae, seven days old, were used. Behavioral responses were measured using a "Y" olfactometer system. The results obtained indicate that the chrysopid larvae demonstrate the behavior of choice when in contact with volatile organic compounds emitted by the eucalyptus leaves. The result found is important, as it contributes to the understanding that predatory insects respond to volatiles emitted by plants without the participation of herbivores. The chrysopid larva had a preference for odors emitted by injured young leaves. Herbivores have a preference for young leaves because they have more nutrients and less cellulose. The demonstration of variation between the volatiles of young and mature leaves had already been demonstrated by other works, including that the new leaves produce greater production of secondary metabolites. The results found suggest the existence of compounds and / or concentrations of different compounds among young and mature leaves, responsible for influencing the behavior of choice of these predatory insects.

Keywords: Olfactometer, natural enemies, biological control, integrated management.

1 – INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* é originado da Austrália, Tasmânia e outras ilhas da Oceania, possuindo aproximadamente 730 espécies, sendo apenas 20 delas atualmente utilizadas para fins comerciais em todo o mundo (PINTO JÚNIOR et al., 2014).

Foelkel (2005) expõe a dificuldade em precisar como e quando os eucaliptos ingressaram pela primeira vez no Brasil, havendo controvérsias se teria sido no Rio de Janeiro, em 1855 ou 1865, ou no Rio Grande do Sul, em 1868. Ainda segundo o autor, há inclusive citação de muito antes dessas datas, de exemplares plantados no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, em 1825. No início dos primeiros cultivares brasileiros, o plantio possuía fins decorativos como quebra-ventos e para obtenção de seu óleo essencial, entretanto, outros países já se destacavam como produtores de madeira, levando a considerá-los como potencial recurso madeireiro pela Companhia Paulista de Estradas de Ferro, que necessitava de lenha, postes e moirões (FOELKEL, 2005).

Dados da Indústria Brasileira de Árvores (IBÁ, 2019) e Santarosa et al. (2012) demonstram que no Brasil, a área de reflorestamento corresponde a 7,84 milhões de hectares plantados com eucalipto, pinus e demais espécies florestais (acácia, araucária, paricá e teca) usadas para os segmentos de celulose e papel (35%), siderurgia e carvão vegetal (13%), painéis de madeira e pisos laminados (6%) e outros fins. Segundo os autores, os plantios de eucalipto ocupam 5,7 milhões de hectares com destaque para os estados de Minas Gerais (24,5%), São Paulo (16%) e Mato Grosso do Sul (15,5%), que juntos respondem por mais da metade de toda a área cultivada no país.

O setor florestal possui importância econômica relevante, fechando 2018 com PIB em R\$ 86,6 bilhões, representando 1,3% no PIB de toda a riqueza gerada no país e 6,9% do PIB industrial (IBÁ, 2019). Ainda segundo esta publicação, o setor também é responsável pela geração de R\$ 12,8 bilhões em tributos federais, estaduais e municipais, o que corresponde a 0,9% de toda a arrecadação do País, e pela empregabilidade direta de 513.000 pessoas, sendo estimada empregabilidade total (diretos, indiretos e resultantes do efeito renda) na ordem de 3,8 milhões.

Segundo Benatti (2013) devido à importância da cultura florestal no cenário econômico nacional, a variedade da espécie florestal utilizada é fator importante para determinação de sua produtividade. Ainda segundo o autor, na maior parte das florestas plantadas são utilizados clones, plantas com desenvolvimento acelerado, tolerância a doenças e adversidades climáticas, e ainda capazes de gerar produtos de alta qualidade. Dentre os

clones mais utilizados no Brasil estão o *Eucalyptus urograndis*, híbrido resultado do cruzamento entre *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus urophylla* (PALUDZYSZYN-FILHO et al., 2004). Dessa combinação resultou em árvores vigorosas com madeira de maior densidade e com grande resistência à doença do cancro causada pelo fungo *Cryphonectria cubensis* (Bruner) Hodges, 1980 (Diaporthales: Cryphonectriaceae) (PALUDZYSZYN-FILHO et al., 2004; VALERI et al., 2001).

De acordo com Neves et al. (2011), os clones de *E. urograndis* das linhagens I144 e I220 são considerados os mais indicados para produção de bioenergia, por apresentarem maiores valores de densidade básica da madeira. Adicionalmente, por apresentarem elevado teor de lignina, estes autores informam que a linhagem I144 de *E. urograndis* é a variedade mais adequada à produção de carvão vegetal. Estudos de Protásio e colaboradores (2014) demonstraram que o clone I144 resulta em maior produtividade de madeira quando comparado ao clone I220.

Conforme esclarecem Machado et al. (2016) e Queiroz et al. (2014), além da variedade da espécie, diversos aspectos técnicos devem ser observados para que a cultura do eucalipto desempenhe este importante papel na economia do país, tais como: clima, solo, dimensão da área, tratos culturais, insumos, sistema de cultivo, finalidade de uso, sistema de colheita, dentre outros. Ainda segundo estes autores, o manejo de pragas é essencial ao processo, tendo em vista que seus impactos estão relacionados não só à viabilidade financeira do negócio, mas também à sustentabilidade ambiental.

Vários insetos adaptaram-se ao eucalipto e aos plantios florestais, provavelmente devido à semelhança com outras plantas nativas brasileiras e também pela homogeneidade do plantio que se constitui fonte constante de alimento (MACHADO et al., 2016; QUEIROZ et al., 2014). Segundo Queiroz et al. (2014), a adaptação ocorreu tanto para as espécies nativas tais como: formigas cortadeiras – saúvas (*Atta* spp.) e quenquéns (*Acromyrmex* spp.); cupins dos gêneros *Coptotermes* spp., *Heterotermes* spp. e as lagartas desfolhadoras - *Eacles imperialis magnifica* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Saturniidae), quanto as espécies introduzidas, tais como: Microvespa do citriodora - *Epichrysocharis burweli* (Schauff) (Hymenoptera: Eulophidae); Percevejo bronzeado - *Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero & Dellapé, 2006) (Hemiptera: Thaumastocoridae), vespa da galha - *Leptocybe invasa* (Fisher & La Salle) (Hymenoptera: Eulophidae) e psilídeos - *Ctenarytaina spatulata* (Taylor, 1997) (Hemiptera, Psyllidae).

Santos et al. (2008) destaca o conhecimento de centenas de insetos praga associados ao eucalipto, desde a fase de viveiro até o final do ciclo, com destaque para os desfolhadores,

como as formigas-cortadeiras, os lepidópteros e os coleópteros, os danificadores de raízes, broqueadores de tronco e os sugadores de seiva, representados pelos psílídeos e, mais recentemente, a incidência de ácaros. Quanto aos herbívoros responsáveis por danos às folhas, Pivello & Varanda (2005) e Ricklefs (2016) citam a preferência destes insetos pelas folhas jovens por estas apresentarem uma quantidade maior de nutrientes acumulados e menos celulose. Outra particularidade das folhas jovens, segundo Kogan (1986), é a maior taxa fotossintetizante e metabólica, resultando em maior produção de metabólitos secundários de defesa. Segundo Pichersky *et al.* (2006) e Nerio *et al.* (2010), estes metabólitos secundários, os óleos essenciais, podem atuar como sinais de comunicação química e como repelentes de pragas, sendo consistente a afirmação de Boege & Marquis (2005) de que os estágios mais jovens são mais defendidos pelos inimigos naturais, tendo em vista que a produção de voláteis diminui conforme o desenvolvimento das folhas.

Daí surge uma oportunidade para reduzir o impacto da cultura do Eucalipto, considerada controversa, pois de um lado promove o desenvolvimento econômico e a geração de empregos, e de outro promove a redução da biodiversidade pelo plantio de monocultura (BATISH *et al.*, 2008, MORA & GARCIA, 2000). Segundo estes autores, o eucalipto pode causar prejuízo ambiental através do consumo de água e demanda elevada de nutrientes, além de reduzir as áreas naturais e levar à redução de seus serviços ecossistêmicos, dentre eles o de regulação através do controle biológico de pragas e doenças. A controvérsia, na realidade, se estende também às demais monoculturas que dominam o território nacional, porém a cultura do eucalipto pode tornar-se benéfica ao minimizar a perda em serviços ecossistêmicos de regulação por produzir os óleos essenciais, uma vez que, segundo Batish *et al.* (2008), este produto possui amplo espectro de atividade biológica contra fungos, bactérias, insetos, ácaros e ervas daninhas, sendo um mecanismo de controle simples, barato e não poluente. No entanto, Brooks & Barnard (1990) alertam sobre os efeitos dos óleos essenciais em outros microrganismos não-alvo, incluindo polinizadores, abelhas e inimigos naturais cuja avaliação é escassa.

Dentre os inimigos naturais com potencial para uso em florestas de eucalipto está o grupo dos Chrysopidae, segunda maior família de insetos da ordem Neuroptera com 75 gêneros, 11 sub-gêneros e 1.200 espécies (BROOKS & BARNARD, 1990). Das mais de 6.000 espécies de Neuroptera conhecidas, aproximadamente 2.100 pertencem à Myrmeleontidae, maior família desta ordem (ALBUQUERQUE *et al.*, 2009).

Chrysopidae são conhecidos como bichos-lixeiros, devido ao comportamento que as larvas de muitas espécies possuem de carregar detritos em seu dorso, o que lhes concede

proteção contra inimigos naturais pela barreira física e pela camuflagem (ALBUQUERQUE et al., 2009). Ainda segundo estes autores, os detritos são constituídos por exoesqueletos de suas presas, fibras de origem vegetal ou animal e outras partículas que encontram durante seu deslocamento, sendo mantidos presos ao corpo graças às numerosas cerdas longas, lisas ou serrilhadas, com ponta reta ou em forma de gancho, existentes na superfície dorsal e nos tubérculos laterais de seu tórax e abdome.

Chrysoperla externa (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) é um predador com larga distribuição geográfica e variedade de habitats, e é considerada uma das espécies mais promissoras para o controle biológico de pragas (ALBUQUERQUE et al., 1994; RESENDE et al., 2017). Segundo Soares et al. (2017), os insetos adultos possuem corpo de coloração esverdeada, asas membranosas reticuladas e asas anteriores com nervuras transversais costais, e as larvas são do tipo compodeiformes, com cabeça triangular, prognata, aparelho bucal sugador mandibular, pernas ambulatórias normais, corpo com várias cerdas. Ainda segundo estes autores, a postura dos crisopídeos é reconhecida prontamente e de fácil diferenciação dos demais insetos, pelo fato de os ovos serem pedicelados.

As larvas de *C. externa* possuem grande capacidade reprodutiva e de locomoção, tolerância a inseticidas e alimentam-se de uma variedade de artrópodes, incluindo ácaros e pequenos insetos fitófagos, como os afídeos (SOARES et al., 2017). O conhecimento sobre seu ciclo de vida, hábitos alimentares e ampla distribuição, aliada ao desenvolvimento de dietas e criação massal em laboratórios, refletiu no aumento do interesse por essa espécie e pelo grupo Neuroptera em geral para a aplicação em programas de Controle Biológico (ALBUQUERQUE et al., 1994).

Com base no exposto, este capítulo teve o objetivo de verificar se os voláteis emitidos pelas folhas jovens e maduras de *E. urograndis*, íntegras e com injúrias, atuam como atraentes de larvas de crisopídeo. A hipótese é de que há preferência de escolha das larvas de crisopídeo pelos voláteis das folhas jovens sujeitas à injúria, tendo em vista que estas possuem maior produção de compostos orgânicos voláteis, sendo capazes de atrair o predador.

2 – MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 – Área do Estudo

Os ensaios de olfatometria foram realizados no Laboratório de Ecologia, Evolução e Biodiversidade (LEEBIO) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) (Uberlândia, MG). Os cultivares de *E. urograndis* clonado do tipo Urograndis I144 e as larvas de *C. externa* foram obtidas conforme indicado na Figura 01 e detalhados em sequência. As mudas de eucalipto foram adquiridas de viveiro especializado, de forma a garantir a utilização da espécie desejada para os experimentos, uma vez que sua identificação via herbário é dificultada pela ausência de flores e frutos. A metodologia de cultivo de *E. urograndis* não foi divulgada pelo viveiro, devido a aspectos comerciais e de patente.

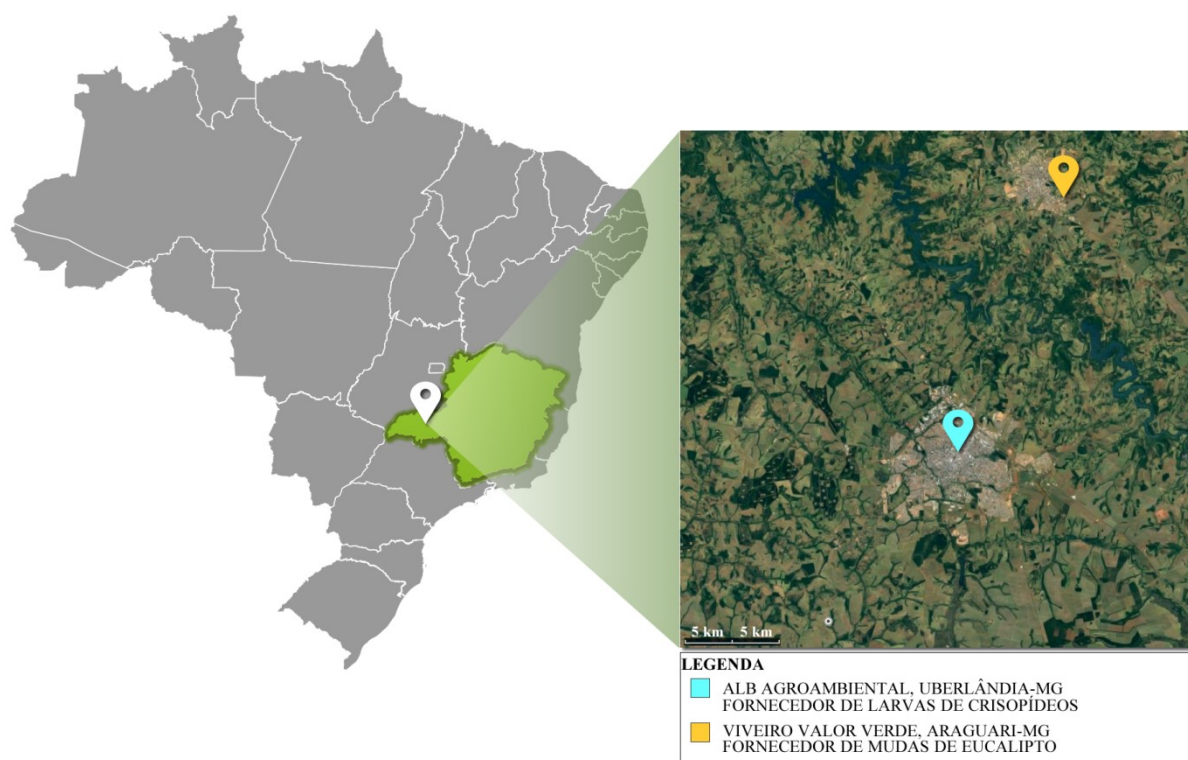


FIGURA 1 - Localização dos fornecedores de *Eucalyptus urograndis* do tipo I144 e de larvas de *Chrysoperla externa*.

2.2 – Criação de *Chrysoperla externa* e preparação para os ensaios

As larvas de *C. externa* foram obtidas da biofábrica ALB Agroambiental, localizada em Uberlândia – MG. Adultos de *C. externa* coletados em campo foram enviados para a biofábrica e permaneceram mantidos em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ \text{C}$), umidade ($70\% \pm 10\%$) e fotofase de 14h. O fluxo de criação é apresentado na Figura 2 e efetuado conforme adaptação de Macedo e Soares (2000).

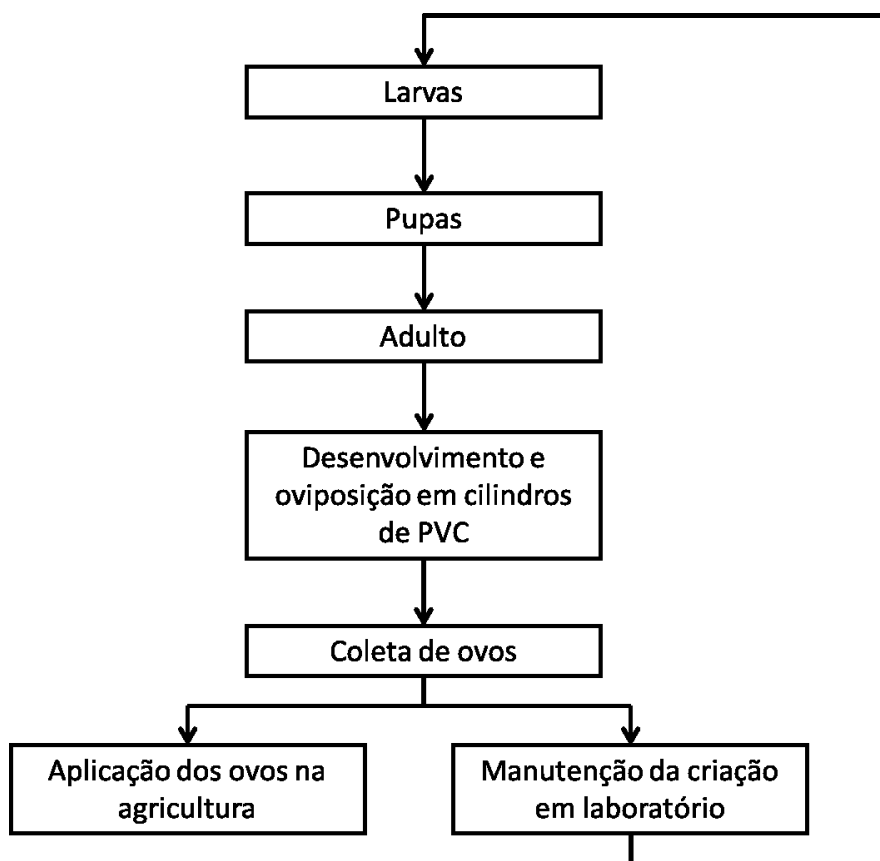


FIGURA 2 - Fluxograma de criação de *Chrysoperla externa* em laboratório.

Cerca de 12 casais adultos foram mantidos em “gaiolas” constituídas por tubo de PVC com 23 cm de altura por 23 cm de diâmetro, sendo vedados na parte superior e inferior com tecido organza. O interior do tubo foi forrado com papel branco para permitir as posturas. O alimento foi fornecido através de algodão contendo mistura formada por levedo de cerveja, mel e água. As posturas foram transferidas para potes de plástico contendo ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), para alimentação das larvas que

permaneceram nestes recipientes até o estágio de casulo, quando foram transferidas para as gaiolas de criação dos adultos.

Os ensaios foram realizados com larvas de *C. externa* com 7 ± 2 dias de idade (Figura 3). As larvas foram colocadas em tubos de plástico coberto com filme de PVC e fitas contendo ovos de *A. kuehniella* como alimento.

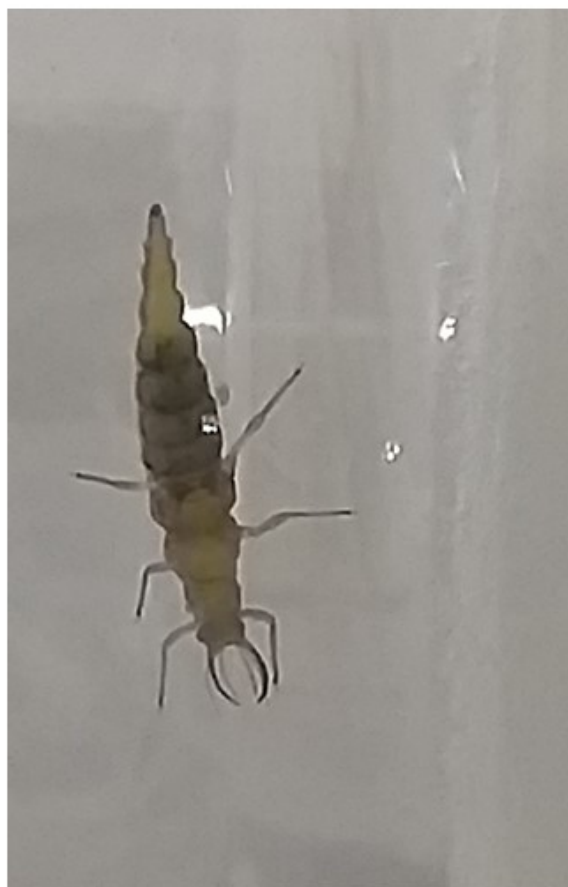


FIGURA 3 – Detalhe de larva de *Chrysoperla externa*.

2.3 – Aquisição das plantas e preparação para os ensaios

As mudas de eucalipto foram obtidas do Viveiro Valor Verde, localizado no município de Araguari – MG. Foram utilizadas mudas de eucalipto clonado do tipo Urograndis I144, uma mistura entre as espécies *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus grandis*, com idade aproximada de 70 dias, altura de 30 ± 5 cm, com 10 a 12 folhas totalmente expandidas, dispostas em tubetes com mistura de terra e substrato. A simulação de herbivoria foliar foi

feita com um perfurador de papel modelo P202 Tilibra, com seis milímetros de diâmetro do furo (Figura 04).



FIGURA 4 – Detalhes do perfurador utilizado para simulação da herbivoria (A) e das perfurações nas folhas de *Eucalyptus urograndis* (B).

A preparação das mudas foi feita conforme os tratamentos: (1) Planta sem injúria: utilizadas como controle para as comparações com os tratamentos com injúria nas folhas; (2) Planta com injúria Folha Nova: realização de quatro a cinco perfurações com perfurador em quatro folhas totalmente expandidas e localizadas na parte superior da muda; e (3) Planta com injúria Folha Madura: realização de quatro a cinco perfurações com furador em quatro folhas totalmente expandidas e localizadas na parte inferior da muda. Não foram realizadas perfurações na nervura principal das folhas e há estimativa de redução de 10 a 15% de área de cada folha, representando cerca 1,5 cm² de área.

Antes da realização dos ensaios com os insetos, os tubetes com as mudas foram envolvidos com papel alumínio e fechados até a altura do caule, evitando a contaminação do ar com o odor de voláteis provenientes do plástico do tubete, do substrato ou de outros organismos (bactérias, fungos, etc) (PINTO-ZEVALLOS et al., 2013; SARAIVA, 2014).

As injúrias provocadas nas folhas estimulam a liberação de voláteis das plantas e visam simular a herbivoria causada pelas pragas (HOLOPAINEN & GERSHENZON, 2010). Segundo Waterman et al. (2019), a herbivoria simulada consiste em técnica artificial para criação de dano mecânico ao tecido foliar, simulando a alimentação realizada pelo herbívoro real. Ainda segundo estes autores, várias são as técnicas de simulação de herbivoria, sendo utilizadas lâminas, seringas e perfuradores conforme o fim a que se destina o estudo. A

herbivoria simulada apresenta algumas vantagens na pesquisa, tais como controlar o tipo, tempo e intensidade de dano nas plantas experimentais e minimização do desenvolvimento de patógenos às plantas danificadas (BALDWIN, 1990; RAGHU & DHILEEPAN, 2005).

2.4 – Ensaios de resposta olfativa

A avaliação da resposta olfativa das larvas de *C. externa* aos compostos orgânicos voláteis das plantas foi realizada através de modelo modificado de Akol *et al.* (2003), Du *et al.* (1996) e Han e Chen (2002). O fluxo de ar é gerado por bomba a vácuo modelo Big Air A320 que segue para o filtro de carvão ativado modelo Fit 200 para purificação e remoção de eventuais impurezas. Em seguida, o ar passa por câmara de vidro com 8,5 cm de diâmetro e 23 cm de altura, onde são colocadas as plantas para os testes. Para medir e padronizar o fluxo de ar, foram utilizados dois fluxômetros calibrados em 1,5 L/min e conectados a cada lado dos braços do olfatômetro em "Y" formado por ângulo de 120° entre os braços, diâmetro interno de 2 cm e comprimento total dos braços de 17 cm (Figura 5). Todo o sistema foi interligado por tubos PTFE composto por teflon (Figura 6).

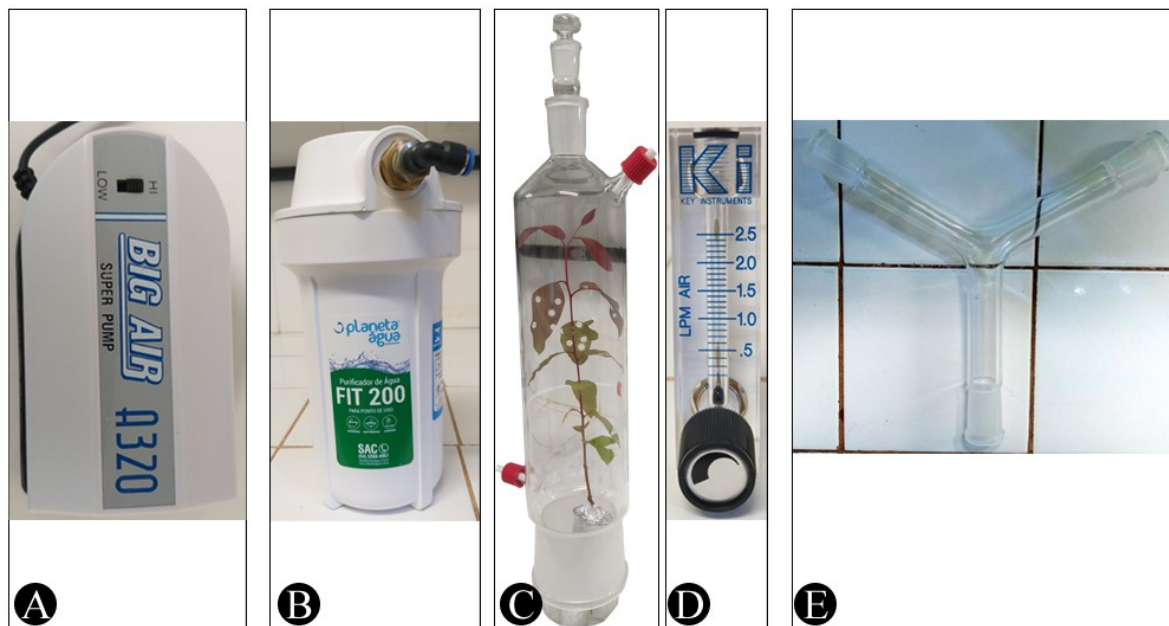


FIGURA 5 - Sistema de olfatômetro em Y.

(A) bomba de vácuo; (B) filtro de carvão ativado; (C) câmara de coleta dos voláteis; (D) fluxômetro e (E) tubo em "Y".

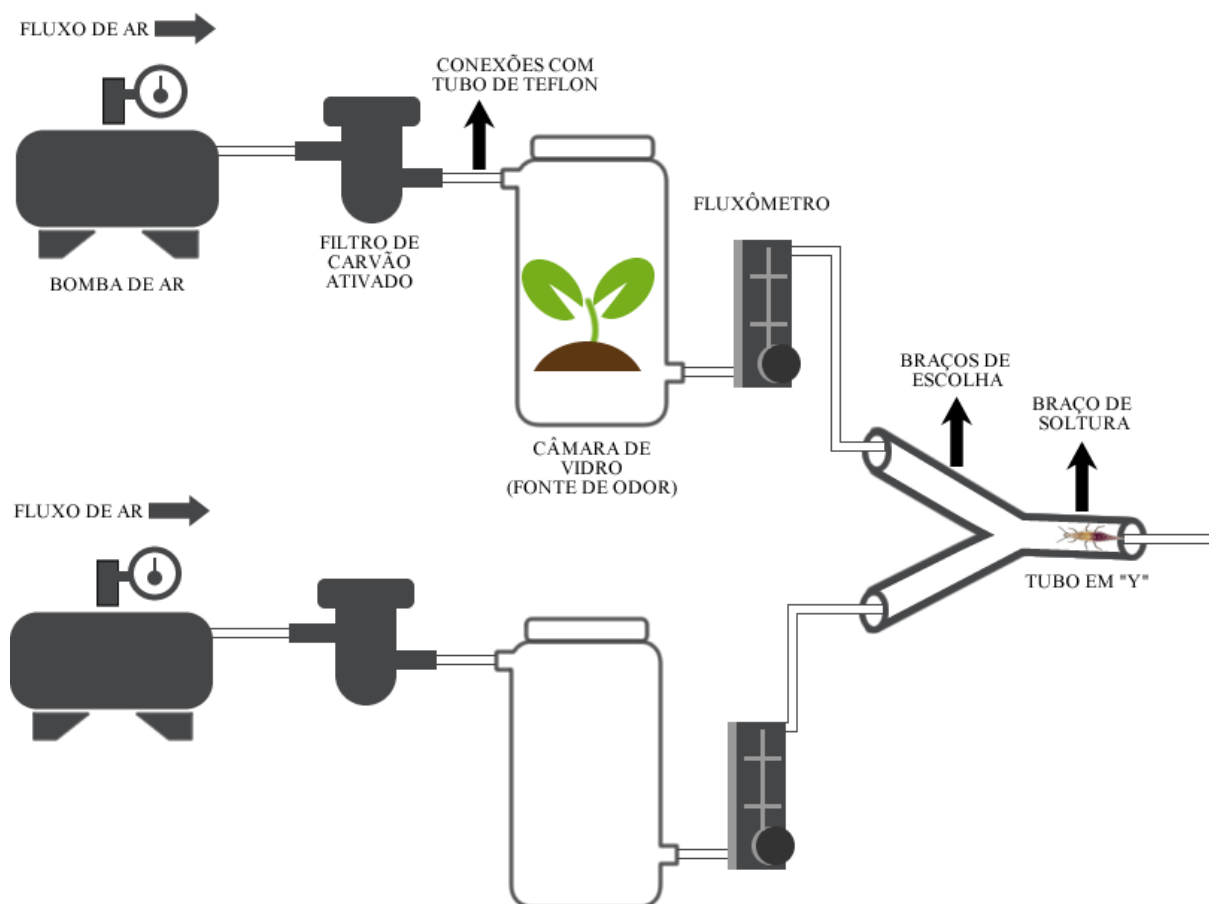


FIGURA 6 - Diagrama esquemático do sistema de olfatômetro em Y.
Modificado de Akol et al. (2003).

Conforme metodologia de Resende e colaboradores (2015), foi realizado um estudo prévio do deslocamento do ar dentro do olfatômetro, utilizando-se água e gelo seco, onde foi constatado que não há mistura do ar entre os diferentes braços. Cada repetição ou bioensaio foi considerado como o teste realizado com uma larva de *C. externa* inserida na base do olfatômetro cuja escolha foi considerada quando o inseto ultrapassava 1/3 do braço do tubo em Y e permanecia por 15 segundos. O tempo máximo estabelecido para o bioensaio foi de 10 minutos. Foram considerados na análise estatística apenas os insetos que realizaram a escolha segundo estes critérios. Foram realizados 409 bioensaios no total, sendo que 129 insetos não tiveram resposta conforme os critérios estabelecidos e não foram considerados na estatística. Foram utilizados um total de 280 insetos que tiveram resposta conforme a metodologia utilizada.

A cada inseto testado foi realizada rotação de 180° no sentido horizontal (horário) do tubo em Y e o lado de apresentação dos odores foi trocado a cada 3 insetos. Após 6 insetos foi realizada a troca do Olfatômetro Y e a cada 12 insetos foi realizada a troca das plantas, uma vez que a produção dos voláteis é variável entre as plantas individuais (PAREJA et al., 2009).

Após 6 e 12 testes, respectivamente, o olfatômetro e as câmaras das plantas foram lavados com água, detergente (sabão neutro), álcool 70% e colocada em estufa a 100°C por 60 minutos para eliminar contaminação. Os ensaios foram realizados no período das 7 horas às 17 horas e sob condições constantes de laboratório quanto a luminosidade (luz fluorescente) e temperatura (25°C).

A avaliação da resposta olfativa das larvas *C. externa* frente ao eucalipto foi feita conforme os experimentos a seguir testando-se 40 insetos em cada uma das 07 combinações: (1) - Ar limpo em ambos os braços do olfatômetro; (2) - Planta sem injúria x Ar Limpo; (3) - Planta com injúria Folha Nova x Ar Limpo; (4) - Planta com injúria Folha Madura x Ar Limpo; (5) – Planta com injúria Folha Nova x Planta sem injúria; (6) – Planta com injúria Folha Madura x Planta sem injúria; e (7) – Planta com injúria Folha Nova x Planta com injúria Folha Madura.

2.5 – Análise dos dados

Para descrição dos resultados dos testes de olfatometria foi utilizada a frequência absoluta e a porcentagem para as variáveis categóricas. A frequência absoluta (n_i) é dada pelo número de vezes em que uma determinada variável assume um determinado valor/categoria em questão. A porcentagem (p_i) é o resultado da razão entre a frequência absoluta e o tamanho da amostra, multiplicado por 100, isto é, $100 \cdot \frac{n_i}{n}$. Para verificar se haviam diferenças significativas na porcentagem de escolha entre as alternativas de cada ensaio de olfatometria, foi aplicado o teste qui-quadrado (χ^2), considerando como proporção esperada 0,50 (50%) em cada um dos braços do olfatômetro. As análises foram realizadas no ambiente estatístico R Development Core Team, versão 3.3.1 e foi utilizado o nível de significância de 5%, conforme metodologia utilizada por Souna et al. (2019).

3 – RESULTADOS

Os resultados percentuais obtidos com as escolhas das larvas de *C. externa* em cada ensaio de olfatometria executado com folhas de *E. urograndis* estão dispostos na Figura 7. Complementando os resultados desta, a Tabela 1 apresenta os resultados do teste qui-quadrado.

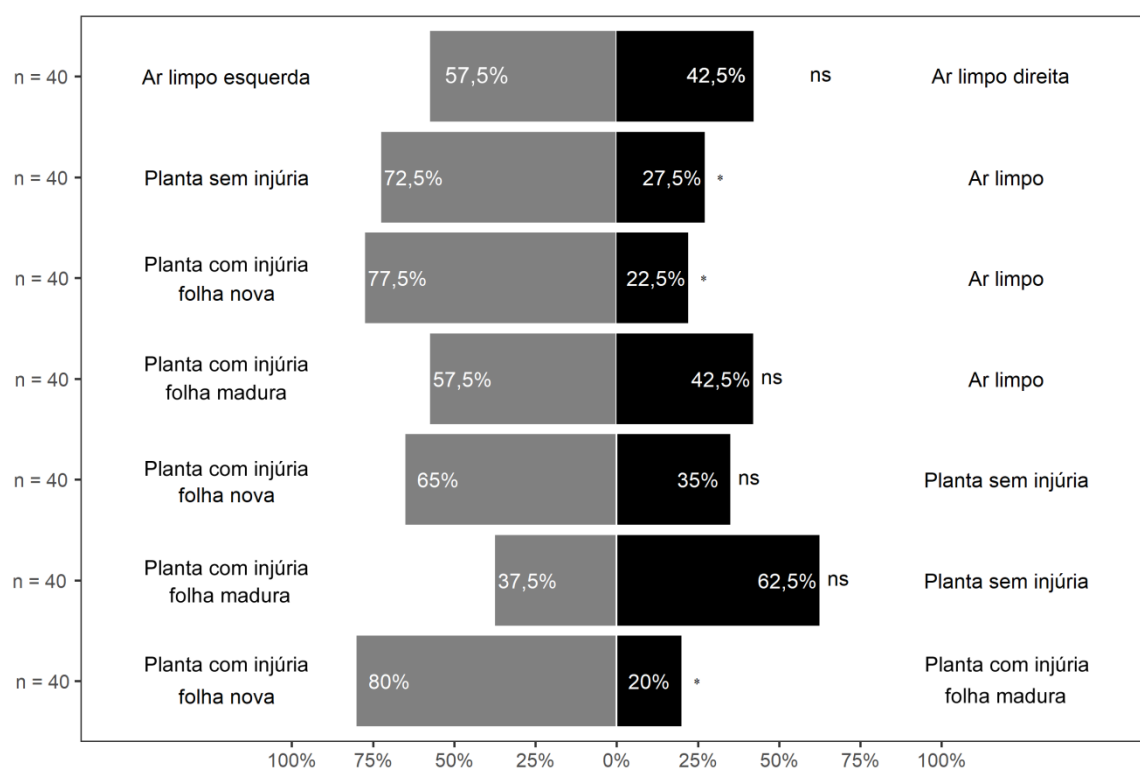


FIGURA 7 - Distribuição de frequências da escolha de larvas de *Chrysoperla externa*. (n = número de insetos que escolheram um dos braços) (ns: não significativo; *: valor $p < 0,05$).

Tabela 1 - Resultados do teste de diferença da porcentagem de escolha pelo tratamento do olfatômetro em cada ensaio.

Tratamento do olfatômetro		Teste χ^2	
Opção 01	Opção 02	χ^2	p
Ar limpo	Ar limpo	0,63	0,429
Planta sem injúria	Ar limpo	7,23	0,007*
Planta com injúria folha nova	Ar limpo	11,03	0,001*
Planta com injúria folha madura	Ar limpo	0,63	0,429
Planta com injúria folha nova	Planta sem injúria	3,02	0,082
Planta com injúria folha madura	Planta sem injúria	2,03	0,155
Planta com injúria folha nova	Planta com injúria folha madura	13,23	< 0,001*

* Valor $p < 0,05$.

No tratamento em que ar limpo foi oferecido nos dois lados do olfatômetro, os insetos escolheram aleatoriamente tanto o lado esquerdo quanto o direito e não houve diferença significativa ($\chi^2_1 = 0,63$ e $p = 0,429$).

Quando contrapostos ao ar limpo, houve preferência dos insetos aos odores de planta sem injúria ($\chi^2_1 = 7,23$ e $p = 0,007$) e planta com injúria folha nova ($\chi^2_1 = 11,03$ e $p = 0,001$). A frequência de escolha foi de mais de 70% nestes ensaios. Por outro lado, a planta com injúria folha madura, embora escolhida com mais frequência em relação ao ar limpo (57,5% contra 42,5%), não apresentou diferença significativa ($\chi^2_1 = 0,63$ e $p = 0,429$).

Também não houve predominância significativa pelas plantas com injúria folha nova ($\chi^2_1 = 3,02$ e $p = 0,082$) ou folha madura ($\chi^2_1 = 2,03$ e $p = 0,155$) quando contrapostas com a planta sem injúria. Pode-se destacar que, embora não significativa, a porcentagem de escolha pela planta sem injúria (62,5%) foi maior no ensaio realizado em comparação com a planta com injúria folha madura (37,5%).

Por fim, no último ensaio realizado, nota-se que houve uma predominância de escolha pela planta com injúria folha nova (80%) em relação à planta com injúria folha madura (20%), sendo tal diferença significativa ($\chi^2_1 = 13,23$ e $p < 0,001$).

4 – DISCUSSÃO

Embora as fontes de odor e os braços do olfatômetro tenham sido invertidos para evitar qualquer viés, adicionalmente foi realizado ensaio com oferecimento de ar limpo em ambos os braços. O resultado deste ensaio demonstrou que não houve vício em qualquer lado do olfatômetro, comprovando a eficiência do sistema e corroborando resultados de outros estudos que utilizaram metodologia semelhante. Oliveira (2014), por exemplo, avaliou o efeito da herbivoria múltipla na atração de *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinellidae) para voláteis de plantas danificadas por mais de uma espécie de pulgão. Moraes et al. (2005) avaliaram a resposta do parasitóide *Telenomus podisi* (Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae) aos voláteis de sementes de soja *Glycine max* (L.) Merrill e de ninfas de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae).

Os resultados deste estudo demonstraram que *C. externa* possui comportamento de escolha quando em contato com compostos orgânicos voláteis, corroborando outros estudos. Whitman (1988), por exemplo, verificou que os insetos predadores respondem aos voláteis das plantas. Salamanca et al. (2015) demonstrou a atração de adultos de *C. externa* aos voláteis de plantas de coentro *Coriandrum sativum* L. (Apiaceae) quando isoladas e na presença de flores de *Rosa hybrida* L. (Rosaceae). Resende (2012) verificou que adultos virgens e acasalados tiveram escolhas distintas aos voláteis de coentro e erva-doce *Foeniculum vulgare* Mill. Segundo este autor, adultos (machos e fêmeas) virgens foram atraídos por coentro, ao passo que os acasalados tiveram atração por erva-doce. Em estudo de Zhu et al. (2005), *C. carnea* e *Chrysopa oculata* Say (Neuroptera: Chrysopidae) tiveram escolhas distintas quando em contato com voláteis de alfafa *Medicago sativa* L, e feromônios do pulgão *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hemiptera: Aphididae). Neste estudo, *C. carnea* foi atraída pelos voláteis de alfafa e *C. oculata* pelos voláteis do pulgão. Reddy (2002) identificou a preferência de escolha de adultos de *C. carnea* aos voláteis de folhas de berinjela (*Solanum melongena* L., Solanaceae), quiabo (*Abelmoschus esculents* L., Malvaceae) e pimenta (*Capsicum annum* L., Solanaceae) sujeitas a danos mecânicos artificiais.

No presente estudo, foi utilizado apenas o inseto predador e a planta a fim de identificar o papel dos voláteis na interação planta – predador. Os resultados encontrados aqui corroboram com outros estudos citados acima, uma vez que as larvas de *C. externa* realizaram escolhas conforme os diferentes tipos de voláteis da planta *E. urograndis*, sem a participação de presas e outros elementos. Segundo Hogervorst et al. (2008), Limburg & Rosenheim, (2001) e Takabayashi & Shiojiri (2019), os predadores respondem às pistas químicas emitidas

pelas plantas tanto para localização de suas presas, quanto para o consumo de elementos produzidos pelas plantas para suplemento de sua dieta, como “honeydew” e néctar extrafloral. Ananthakrishnan (1992) relata que um inimigo natural é capaz de reconhecer os fatores da planta hospedeira, e que a decisão de escolha de forrageamento na planta é feita independentemente da presença ou ausência de sua presa ou hospedeiro.

Os resultados encontrados neste capítulo indicaram haver variação entre os voláteis emitidos por folhas novas e maduras corroborando com Boege & Marquis (2005). Estes autores sugerem que há uma relação inversa entre a idade e a produção de defesas indiretas pelas plantas, resultando em modificações nas interações entre plantas, herbívoros e seus inimigos naturais ao longo do desenvolvimento das estruturas das plantas. Diversos estudos corroboram com a diferença entre compostos orgânicos voláteis conforme o estágio ontogenético das folhas. Cole (1980), por exemplo, identificou redução na produção de voláteis que atuam como pistas para inimigos naturais durante o desenvolvimento de várias espécies cultivadas da família Brassicaceae. Li et al. (1996), em avaliação dos voláteis emitidos por folhas jovens e maduras de 17 espécies de eucalipto nativos da Tasmânia, encontraram pouca diferenciação nos componentes químicos das folhas, porém a variação na concentração dos compostos foi significativa. Maatallah et al. (2020) também identificaram diferentes concentrações de voláteis em folhas jovens e maduras de pêssogo *Prunus persica* L. (Batsch). Bracho-Nunez et al. (2010) investigaram os padrões de emissão de compostos orgânicos voláteis durante o desenvolvimento de folhas de espécies do Mediterrâneo, tais como, *Buxus sempervirens* L., *Ceratonia siliqua* L. e outras, e verificou que o estágio de desenvolvimento das folhas influenciou claramente a emissão dos voláteis por folhas jovens e maduras.

As injúrias provocadas nas folhas novas e maduras desencadearam diferentes respostas das larvas de *C. externa*, com preferência aos odores emitidos pelas folhas novas. Outros estudos relatam a preferência de insetos por odores de folhas jovens devido a aspectos relacionados à oviposição e nutrição. Nahrung & Allen (2003) identificaram a preferência de adultos do besouro *Chrysophtharta agricola* (Chapius) (Coleoptera: Chrysomelidae, Paropsini) à folhagem jovem de *Eucalyptus nitens* (Deane and Maiden) Maiden para oviposição. Tanaka & Nakasuji (2002) também identificaram a preferência das fêmeas adultas de *Galerucella nipponensis* (Coleoptera: Chrysomelidae) às folhas jovens ou de meia idade como locais de oviposição em sua planta hospedeira aquática *Trapa japonica* Flerov (Trapaceae). Em ensaios de alimentação em laboratório com as espécies *Agelastica alni* L. (Coleoptera: Chrysomelidae), *Lochmaea capreae* L. (Coleoptera: Chrysomelidae),

Galerucella lineola F. (Coleoptera: Chrysomelidae), *Plagioder a ersicolora* Laich. (Coleoptera: Chrysomelidae), Ikonen (2002) verificou que as folhas jovens das plantas *Populus tremula* L. (Salicaceae), *Salix phylicifolia* L. (Salicaceae) e *S. pentandra* (Salicaceae) foram escolhidas em todas as combinações de herbívoros testados, aparentemente devido à variação nas características nutricionais das folhas, como o teor de nitrogênio.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKOL, A. M.; NJAGI, P. G. N.; SITHANANTHAM, S. & MUEKE, J. M. **Effects of two neem insecticide formulations on the attractiveness, acceptability and suitability of diamondback moth larvae to the parasitoid, *D. mollipla* (Holmgren) (Hym., Ichneumonidae).** Journal Applied Entomology, v. 127, p. 325-331, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2003.00771.x>

ALBUQUERQUE, G. S. **Crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae).** In: PANIZZU, A. R.; PARRA, J. R. P. (Orgs.). Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas. 1.ed. Embrapa Informação Tecnológica, cap.23, p.969-1022, 2009.

ALBUQUERQUE, G. S.; TAUBER, C. A. & TAUBER, M. J. ***Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): life history and potential for biological control in central and south America.** Biological Control, v. 4, n. 1, p.8-13, 1994. <https://doi.org/10.1006/bcon.1994.1002>

ANANTHAKRISHNAN, T. N. **Chemical ecology in biological control.** In: Ananthakrishnan, T.N. (Ed.), Emerging Trends in Biological Control of Phytophagous Insects. Oxford and IBH Publishing, New Delhi, pp. 59–67, 1992.

BALDWIN, I. T. **Herbivory simulations in ecological research.** Trends in Ecology & Evolution, v. 5, p. 91–93, 1990. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(90\)90237-8](https://doi.org/10.1016/0169-5347(90)90237-8)

BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K. & KAUR, S. **Eucalyptus essential oil as a natural pesticide.** Forest Ecology And Management, v. 256, n. 12, p. 2166-2174, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>

BENATTI, B. P. **Compartimentalização de biomassa e de nutrientes em estruturas de plantas de eucalipto cultivadas em solos distintos.** 2013. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

BOEGE, K. & MARQUIS, R. J. **Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants.** Trends in ecology & evolution, v. 20, n. 8, p. 441-448, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.05.001>

BRACHO-NUNEZ, A.; WELTER, S.; STAUDT, M. & KESSELMEIER, J. **Plant-specific volatile organic compound emission rates from young and mature leaves of Mediterranean vegetation.** Journal of Geophysical Research: Atmospheres, 116(D16), 2011. <https://doi.org/10.1029/2010JD015521>

BROOKS, S. J. & BARNARD, P. C. **The green lacewing of the world: a generic review (Neuroptera:Chrysopidae).** Bulletin of the British Museum of Natural History, v.59, p. 117-286, 1990.

COLE, R. A. **Volatile components produced during ontogeny of cultivated crucifers.** J. Sci. Food Agric. 31, 549–557, 1980. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740310606>

DU, Y. J.; POPPY, G. M. & POWELL, W. **Relative importance of semiochemicals from first and second trophic levels in host foraging behavior of *Aphidius ervi*.** Journal of Chemical ecology, v. 22, p. 1591–1605, 1996. <https://doi.org/10.1007/BF02272400>

FOELKEL, C. E. B. **Eucalipto no Brasil, história de pioneirismo.** Visão Agrícola, n. 4, p. 66-69, 2005.

HAN, B. Y. & CHEN, Z. M. **Behavioral and electrophysiological responses of natural enemies to synomones from tea shoots and kairomones from tea aphids, *Toxoptera aurantii*.** Journal of Chemical Ecology, v. 28, n. 11, p. 2.203-2.219, 2002.

HOGERVORST, P. A.; WÄCKERS, F. L.; CARETTE, A. C. & ROMEIS, J. **The importance of honeydew as food for larvae of *Chrysoperla carnea* in the presence of aphids.** Journal of Applied Entomology, v. 132, n. 1, p. 18-25, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2007.01247.x>

HOLOPAINEN, J. K. & GERSHENZON, J. **Multiple stress factors and the emission of plant VOCs.** Trends in plant science, v. 15, n. 3, p. 176-184, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.01.006>

IBÁ – INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Relatório Anual 2019.** Brasília, 2019. 80 p. Disponível em: < <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf>>. Acesso em: 26.01.2020.

IKONEN, A. **Preferences of six leaf beetle species among qualitatively different leaf age classes of three salicaceous host species.** Chemoecology, 12, 23–28, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00049-002-8323-3>

KOGAN, M. **Natural chemicals in plant resistance to insects.** Towa State Journal of Research, v. 60, n.4, p.5001-527, 1986.

LI, H.; MADDEN, J. L. & POTTS, B. M. **Variation in volatile leaf oils of the Tasmanian Eucalyptus species II. Subgenus Symphyomyrtus.** Biochemical Systematics and Ecology, v. 24, n. 6, p. 547-569, 1996. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(96\)00040-3](https://doi.org/10.1016/0305-1978(96)00040-3)

LIMBURG, D. D. & ROSENHEIM, J. A. **Extrafloral nectar consumption and its influence on survival and development of an omnivorous predator, larval *Chrysoperla plorabunda* (Neuroptera: Chrysopidae).** Environmental Entomology, v. 30, n. 3, p. 595-604, 2001. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-30.3.595>

MAATALLAH, S.; DABBOU, S.; CASTAGNA, A.; GUIZANI, M.; HAJLAOUI, H.; RANIERI, A. M. & FLAMINI, G. ***Prunus persica* by-products: A source of minerals, phenols and volatile compounds.** Scientia Horticulturae, 261, 109016, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109016>

MACEDO, L. P. M. & SOARES, J. J. **Criação de *Chrysoperla externa* para o controle biológico de Pragas do algodoeiro.** Campina Grande, PB. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Algodão, 2000 (Circular Técnica, 36).

MACHADO, D.; CORRÊA COSTA, E.; GARLET, J.; BOSCARDIN, J.; PEDRON, L.; Perini, C. & BOLZAN, L. **Avaliação de Inseticidas no Controle de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) Percevejo-bronzeado em Condições de Laboratório.** Floresta e Ambiente. 32. 245-260, 2016. <https://doi.org/10.1590/2179-8087.144415>

MORA, A. L. & GARCIA, C. H. **A cultura do Eucalipto no Brasil.** São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura. 2000. 112p.

MORAES, C. B.; M., LAUMANN, R.; SUJII, E. R.; PIRES, C.; & BORGES, M. **Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*.** Entomologia Experimentalis et Applicata, 115(1), 227-237, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2005.00290.x>

NAHRUNG, H. F.; & ALLEN, G. R. **Intra-plant host selection, oviposition preference and larval survival of *Chrysophtharta Agricola* (Chapius) (Coleoptera: Chrysomelidae, Paropsini) between foliage types of a heterophyllous host.** Agricultural and Forest Entomology, 5, 155–162, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1461-9563.2003.00172.x>

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J. & STASHENKO, E. **Repellent activity of essential oils: A review.** Bioresource Technology, v. 101, n. 1, p.372-378, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.048>

NEVES, T. A.; PROTÁSIO, T. P.; COUTO, A. M.; TRUGILHO, P. F.; SILVA, V. O. & VIEIRA, C. M. M. **Avaliação de clones de *Eucalyptus* em diferentes locais visando à produção de carvão vegetal.** Pesquisa Florestal Brasileira, v. 31, n. 68, p. 319-330, 2011. <https://doi.org/10.4336/2011.pfb.31.68.319>

OLIVEIRA, M. S. **Herbivoria múltipla na indução de voláteis atrativos a *Cycloneda sanguinea* (LINNAEUS, 1763) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE).** 2014. 58 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

PALUDZYSZYN-FILHO, E.; PACHECO, A. R.; DITTMAR, H. & CORDEIRO, C. A. **Estratégias para o melhoramento de eucaliptos tropicais na Embrapa.** Colombo: Embrapa Florestas, 29 p, 2004.

PAREJA, M.; MOHIB, A.; BIRKETT, M. A.; DUFOUR, S. & GLINWOOD, R. T. **Multivariate statistics coupled to generalized linear models reveal complex use of chemical cues by a parasitoid.** *Animal Behaviour*, v. 77, n. 4, p. 901-909, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2008.12.016>

PICHERSKY, E.; NOEL, J. P. & DUDAREVA, N. **Biosynthesis of plant volatiles: natures diversity and ingenuity.** *Science*, v. 311, p. 808-811, 2006. <https://doi.org/10.1126/science.1118510>

PINTO-JÚNIOR, J. E.; SANTAROSA, E. & GOULART, I. C. G. R. **Histórico do cultivo do Eucalipto.** In: SANTAROSA, E.; PENTEADO JUNIOR, J. F.; GOULART, I. C. G. R. (Orgs.). *Transferência de tecnologia florestal: cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda.* Brasília, DF: Embrapa, 2014. Cap.1, p.11-12.

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; HELLÉN, H., HAKOLA, H., VAN NOUHUYS, S. & HOLOPAINEN, J. K. **Induced defenses of *Veronica spicata* - variability in herbivore-induced volatile organic compounds.** *Phytochem. Lett.* n.6, p.653-656, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2013.08.015>

PIVELLO, V. R. & VARANDA, E. M. **O cerrado Pé-de-Gigante: ecologia e conservação.** São Paulo: SMA, 2005.

PROTÁSIO, T. P.; GOULART, S. L.; NEVES, T. A.; ASSIS, M. R. & TRUGILHOS, P. F. **Clones comerciais de *Eucalyptus* de diferentes idades para o uso bioenergético da madeira** *Scientia Forestalis*, v. 42, n. 101, p. 113-127, 2014.

QUEIROZ, D. L.; BARBOSA, L. R.; IEDE, E. T. Principais pragas e seu controle. In: SANTAROSA, E.; PENTEADO-JUNIOR, J. F. & GOULART, I. C. G. R. (Orgs.). *Transferência de tecnologia florestal: cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda.* Brasília, DF: Embrapa, Cap.11, p.87-102, 2014.

R DEVELOPMENT CORE TEAM., **R: a language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2015. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 26 dez. 2019.

RAGHU, S. & DHILEEPAN, K. **The value of simulating herbivory in selecting effective weed biological control agents**. *Biological Control*, 34.3: 265-273, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.03.022>

REDDY, G. V. P. **Plant volatiles mediate orientation and plant preference by the predator *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae)**. *Biological Control*, 25.1: 49-55, 2002. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00038-5](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00038-5)

RESENDE, A. L. S. **Bioecologia de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) e análise faunística da artropodofauna associada a plantas da família Apiaceae**. 106 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

RESENDE, A. L. S.; FERREIRA, R. B. & SOUZA, B. **Atratividade de adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) aos compostos voláteis de coentro, endro e erva-doce (Apiaceae) em condições de laboratório**. *Revista Ceres*, v. 62, n. 1, p.37-43, 2015. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201562010005>

RESENDE, A. L. S.; SOUZA, B.; FERREIRA, R. B. & AGUIAR-MENEZES, E. L. **Flowers of Apiaceous species as sources of pollen for adults of *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera)**. *Biological Control*, v. 106, p.40-44, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.12.007>

RICKLEFS, R. E. A **Economia da natureza**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2016.

SALAMANCA, J.; PAREJA, M.; RODRIGUEZ-SAONA, C.; RESENDE, A. L. S. & SOUZA, B. **Behavioral responses of adult lacewings, *Chrysoperla externa*, to a rose–**

aphid–coriander complex. *Biological control*, n. 80, p. 103-112, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.10.003>

SANTAROSA, E.; PINTO JUNIOR, J. E.; GOULART, I. C. G. R. & PENTEADO-JUNIOR, J. F. Importância socioeconômica e principais usos do eucalipto. In: SANTAROSA, E.; PENTEADO-JUNIOR, J. F.; GOULART, I. C. G. R. (Orgs.). **Transferência de tecnologia florestal: cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda.** Brasília, DF: Embrapa, 2014. Cap.2, p.13-22.

SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V. & PIRES, E. M. **Pragas do eucalipto.** Informe Agropecuário, v. 29, n. 242, p. 47-70, 2008.

SARAIVA, N. B. **Vespa social *Polybia fastidiosuscula*: resposta olfativa para voláteis e identificação dos compostos de plantas de milho induzido.** 2014. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.

SOARES, J. J.; DO NASCIMENTO, A. R. B. & DA SILVA, M. V. **Informações sobre *Chrysoperla externa*.** Embrapa Algodão-Documentos (INFOTECA-E), 2007.

SOUNA, D. A.; BOKONON-GANTA, A. H.; DANNON, E. A.; IMOROU, N.; AGUI, B.; Cusumano, A., & TAMÒ, M. **Volatiles from *Maruca vitrata* (Lepidoptera, Crambidae) host plants influence olfactory responses of the parasitoid *Therophilus javanus* (Hymenoptera, Braconidae, Agathidinae).** *Biological control*, 130, 104-109, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.11.002>

TAKABAYASHI, J. & SHIOJIRI, K. **Multifunctionality of herbivory-induced plant volatiles in chemical communication in tritrophic interactions.** *Current opinion in insect science*, n. 32, p 110–117, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.01.003>

TANAKA, M. & NAKASUJI, F. **Dynamic interaction between a leaf beetle, *Galerucella nipponensis*, and an aquatic plant, *Trapa japonica*.** II. Dispersal behavior of larvae. *Population Ecology*, 44, 1–6, 2002. <https://doi.org/10.1007/s101440200000>

VALERI, S. V.; FERREIRA, M. E.; MARTINS, M. I. E. G.; BANZATTO, D. A. ALVARENGA, S. F.; CORRADINI, L. & VALLE, C. F. **Recuperação de povoamento de *Eucalyptus urophyllacom* aplicações de nitrogênio, potássio e calcário dolomítico.** Scientia Forestalis, v. 60, p. 53-71, 2001.

WATERMAN, J. M.; CAZZONELLI, C. I.; HARTLEY, S. E. & JOHNSON, S. N. **Simulated herbivory: the key to disentangling plant defence responses.** Trends in ecology & evolution, v.34, n.5, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.01.008>

WHITMAN, D. **Allelochemical interactions among plants, herbivores and their predators.** In: Barbosa, P., Letourneau, D. (Eds.), Novel Aspects of Insect–Plant Interactions. Wiley, New York, pp. 11–64, 1988.

ZHU, J.; OBRYCKI, J. J.; OCHIENG, S. A.; BAKER, T. C.; PICKETT, J. A. & SMILEY, D. **Attraction of two lacewing species to volatiles produced by host plants and aphid prey.** Naturwissenschaften 92: 277–281, 2005. <https://doi.org/10.1007/s00114-005-0624-2>

CAPÍTULO 3 - Influência da herbivoria simulada na composição dos óleos essenciais de folhas jovens e maduras de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144.

RESUMO

Os óleos essenciais são metabólitos secundários presentes nas folhas, caules, flores ou frutos, que protegem contra predadores e patógenos microbianos. De amplo uso na indústria de alimentos, perfumaria e farmacêutica, tem encontrado destaque também para o controle de pragas agrícolas como fungicida, inseticida, herbicida, acaricida e nematicida. Podem ser obtidos sinteticamente ou por vias naturais, sendo este considerado como o mecanismo com menor impacto ambiental devido à baixa toxicidade para os mamíferos e à rápida degradação no ambiente. Os óleos essenciais de plantas são considerados ferramentas alternativas para serem integradas ao manejo de insetos e pragas. No entanto, como geralmente consistem em misturas de numerosas compostos, a base fisiológica para sua ação não está totalmente esclarecida. Neste contexto foram investigadas as composições dos óleos essenciais das folhas de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae), jovens, maduras, íntegras e danificadas. Nosso objetivo foi verificar se há variação na composição dos óleos essenciais condicionada pela idade ou integridade foliar, e relacionar os possíveis compostos que interagem com os insetos predadores. A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação com posterior identificação dos compostos com uso do cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas - CG-MS. Nesta análise, 29 compostos foram identificados nas amostras de óleo essencial das folhas de eucalipto, quantidade superior à encontrada em outros estudos. Apenas três componentes respondem por cerca de 50% do percentual de concentração tanto em folhas novas quanto em folhas maduras, sendo o Eucaliptol, α -Terpineol e α -Terpinyl acetate. Os compostos Aromadendrene e Isobornyl isobutanoate<5-hydroxy-> possuem pouco percentual de concentração, no entanto, são compostos que tiveram maior concentração das folhas novas danificadas. Compostos como Eucaliptol, α -Terpineol e Aromadendrene possuem conhecida ação contra insetos. O composto α -Terpinyl acetate tem conhecida ação atrativa sobre insetos lepidópteros quando atua isoladamente. No entanto, quando atua em sinergia com Eucaliptol, possui ação repelente. Os resultados encontrados não permitiram concluir sobre o composto ou grupo de compostos responsáveis pelos resultados encontrados nos testes de olfatometria do segundo capítulo desta tese. São necessários estudos adicionais para identificação dos compostos responsáveis pela preferência dos crisopídeos aos odores das folhas novas danificadas.

Palavras-chave: Eucaliptol; terpineol; repelente; inseticida.

ABSTRACT

Essential oils are secondary metabolites present in leaves, stems, flowers or fruits, which protect against predators and microbial pathogens. Widely used in the food, perfumery and pharmaceutical industry, it has also found prominence in the control of agricultural pests such as fungicide, insecticide, herbicide, acaricide and nematocide. They can be obtained synthetically or by natural means, which is considered to be the mechanism with the least environmental impact due to low toxicity to mammals and rapid degradation in the environment. Essential oils from plants are considered alternative tools to be integrated into the management of insects and pests. However, as they usually consist of mixtures of numerous compounds, the physiological basis for their action is not fully understood. In this context, the compositions of the essential oils of the leaves of *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae), young, mature, healthy and damaged, were investigated. Our objective was to verify if there is a variation in the composition of essential oils conditioned by age or leaf integrity, and to list the possible compounds that interact with predator insects. The extraction of the essential oil was carried out by hydrodistillation with subsequent identification of the compounds using the gas chromatograph coupled to a mass spectrometer - CG-MS. In this analysis, 29 compounds were identified in the samples of essential oil from eucalyptus leaves, an amount higher than that found in other studies. Only three components account for about 50% of the percentage of concentration in both new and mature leaves, being Eucalyptol, α -Terpineol and α -Terpinyl acetate. The compounds Aromadendrene and Isobornyl isobutanoate <5-hydroxy-> have a low percentage of concentration, however, they are compounds that had a higher concentration of damaged young leaves. Compounds such as Eucalyptol, α -Terpineol and Aromadendrene have a known action against insects. The compound α -Terpinyl acetate has a known attractive action on lepidoptera insects when acting alone. However, when it acts in synergy with Eucalyptol, it has a repellent action. The results found did not allow us to conclude about the compound or group of compounds responsible for the results found in the olfactometry tests of the second chapter of this thesis. Additional studies are needed to identify the compounds responsible for the preference of chrysopids over the odors of damaged new leaves.

Keywords: Eucalyptol; terpineol; repellent; insecticide.

1 – INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre os óleos essenciais de plantas teve início em alguns séculos antes da era cristã, havendo registros no pioneirismo de sua obtenção em países orientais como Egito, Pérsia, Japão, China e Índia com aplicação na medicina e no controle de pragas (VIEGAS JÚNIOR & BOLZANI, 2006, VITTI & BRITO, 2003).

O interesse do homem pelos óleos essenciais baseia-se na obtenção natural de compostos aromáticos, que também podem ser obtidos sinteticamente por razões econômicas e por dificuldades na obtenção das plantas produtoras (VITTI & BRITO, 2003). Contudo, Bandoni & Czepak (2008) esclarecem que é crescente a utilização e demanda por produtos naturais, especialmente devido aos problemas que são atribuídos aos produtos sintéticos, tanto para a saúde humana quanto para o meio ambiente. Dentre as vantagens dos produtos naturais, Gomes & Favero (2013) enumeram a baixa toxicidade para os mamíferos, rápida degradação no ambiente e a resistência a eles pelas pragas se desenvolve lentamente. Adicionalmente, Vitti & Brito (2003) mencionam que os aromas sintéticos possuem dificuldade de se aproximar da perfeição dos aromas naturais.

Os óleos essenciais são metabólitos secundários presentes nas folhas, caules, flores ou frutos, que protegem contra herbívoros e patógenos microbianos (BASSOLÉ & JULIANI, 2012, STEFANELLO et al., 2005). São misturas hidrofóbicas voláteis, altamente concentradas de produtos químicos, cujo termo "essencial" deriva da natureza muito aromática dos óleos, de modo que o óleo capta a "essência" da planta da qual foi extraída (LUBBE & VERPOORTE, 2011). As normas ISO 4720: 2018 e ISO 9235: 2013 definem os óleos essenciais como os produtos obtidos pela destilação de partes de plantas (folhas, flores, ramos), por prensagem a frio de epicarpo (casca) de frutas cítricas ou por destilação a seco, após separação da fase aquosa (se existir) por processos físicos (ISO, 2013; ISO, 2018).

Segundo Dorman & Deans (2000), a composição específica do óleo essencial varia conforme a espécie da planta, local, estação do ano, etapa do desenvolvimento da planta, condições de armazenamento e método de extração. Porém, Bizzo et al. (2009) e Wink (1999) complementam que, de maneira geral, a composição é formada principalmente por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas propriedades organolépticas, características dos materiais que podem ser percebidas pelos sentidos humanos, como a cor, o brilho, a luz, o odor, a textura, o som e o sabor. Souza-Filho et al. (2009) e Stefanello et al. (2005) esclarecem que também podem ser encontrados em sua composição compostos minoritários de cadeia longa como alcanos, álcoois e ésteres.

O principal interesse pelos óleos essenciais de eucalipto é devido ao emprego na área farmacêutica e agricultura como antimicrobianos e pesticidas. A concentração dos monoterpenos no óleo essencial de eucalipto parece ser a principal responsável pela sua bioatividade, no entanto, devido à ampla gama de compostos presentes, não é descartado o efeito sinérgico entre seus compostos (BATISH et al., 2008; MAHUMANE et al., 2015; ZHANG et al., 2010).

Por serem ferramentas interessantes para o uso em programas de controle biológico de pragas, o presente capítulo avaliou a composição química do óleo essencial de *E. urograndis* utilizando folhas jovens e maduras, íntegras e injuriadas. Nosso objetivo foi investigar a variação na concentração dos compostos frente à simulação de herbivoria e relacionar os possíveis compostos que interagem com os insetos, por exemplo, o predador natural *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). A hipótese do presente capítulo é de que, com a injúria, ocorra alteração na composição do óleo essencial de folhas jovens e maduras de *E. urograndis*.

2 – MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 – Sistema de Estudo

As extrações de óleos essenciais e análises químicas no Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas – CG – MS - foram realizadas no Laboratório do Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais (NuPpEn) do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Os cultivares de *E. urograndis* foram adquiridos no viveiro “Valor Verde”, cidade de Araguari, Minas Gerais, Brasil. As mudas foram adquiridas de viveiro especializado, de forma a garantir a utilização da espécie desejada para os experimentos, uma vez que sua identificação via herbário é dificultada pela ausência de flores e frutos. A metodologia de cultivo não foi divulgada pelo viveiro, devido a aspectos comerciais e de patente.

Foram utilizadas mudas de eucalipto clonado do tipo Urograndis I144, uma mistura entre as espécies *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus grandis*, com idade aproximada de 70 dias, altura de $30\text{cm} \pm 5\text{cm}$, com 10 a 12 folhas totalmente expandidas, dispostas em tubetes com mistura de terra e substrato. As perfurações para simulação da herbivoria foram realizadas com perfurador de papel modelo P202 Tilibra, com seis milímetros de diâmetro do furo.

A preparação das mudas foi feita conforme o tratamento (Figura 8): (A) Planta sem injúria: utilizadas como controle para as comparações com os tratamentos com injúria nas folhas; (B) Planta com injúria Folha Nova: realização de quatro a cinco perfurações com perfurador em quatro folhas totalmente expandidas e localizadas na parte superior da muda; e (C) Planta com injúria Folha Madura: realização de quatro a cinco perfurações com furador em quatro folhas totalmente expandidas e localizadas na parte inferior da muda. Com as perfurações há estimativa de redução de 10 a 15% de área de cada folha, representando cerca $1,5\text{ cm}^2$ de área. Não houve perfuração da nervura principal durante o experimento.

As injúrias provocadas artificialmente nas folhas visam simular a herbivoria causadas por insetos pragas e estimular a resposta de voláteis das plantas. Além disso, a herbivoria simulada apresenta algumas vantagens na pesquisa, tais como controlar o tipo, tempo e intensidade de dano nas plantas experimentais e minimização do desenvolvimento de patógenos às plantas danificadas (BALDWIN, 1990).

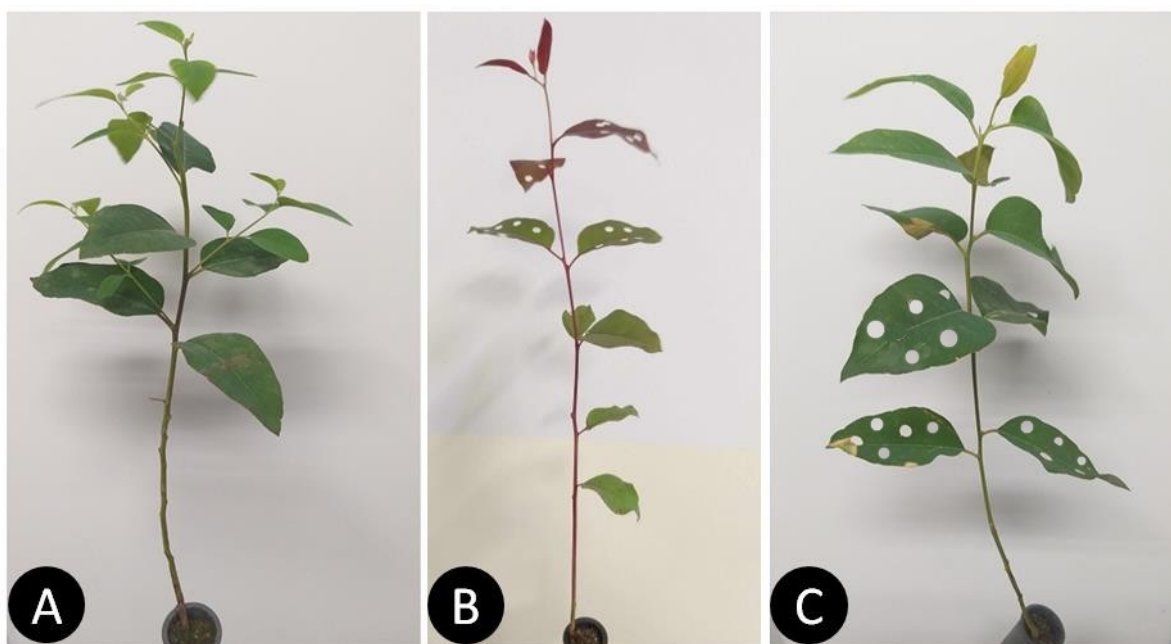


FIGURA 8 – Tratamentos realizados nas folhas de *Eucalyptus urograndis* para extração do óleo essencial.

(A) planta sem injúria, (B) injúria folha nova, (C) injúria folha madura.

2.2 – Extração do óleo essencial

As mudas foram preparadas previamente de acordo com os diferentes tipos de tratamento conforme demonstrado no item 2.1.5. A metodologia de extração dos óleos essenciais foi efetuada conforme Moraes et al. (2009). Inicialmente foi encontrada a umidade das folhas frescas, realizada por método gravimétrico através de balança de luz infravermelha. O conhecimento da umidade das folhas frescas é necessário para calcular o rendimento do óleo extraído. A análise foi realizada com cerca de 1,0 g de material vegetal sob temperatura de 105 ± 5 °C, até que o teor de umidade permanecesse constante.

A extração do óleo essencial foi realizada em um aparelho de Clevenger, por hidrodestilação, sob refluxo de 4 horas (Figura 9). Foram colocados em balão volumétrico de fundo redondo com capacidade de 2,0L, 50g de folhas frescas previamente cortadas com tesoura em pedaços de, aproximadamente, 2cm com 1,0 L de água destilada.



FIGURA 9- Aparelho de Clevenger utilizado para extração do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis*.

Foi realizada a extração em triplicata, ou seja, três repetições para cada teste. Ao término de cada extração, o óleo essencial foi extraído com 30,0 mL de diclorometano PA (3 x 10,0 mL). O solvente foi removido por evaporação em uma chapa aquecedora a 35°C. O rendimento percentual do óleo essencial extraído foi calculado pela equação:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa de óleo obtida (gramas)} \times 100}{\text{material de partida descontando a umidade (gramas)}}$$

Posteriormente, os óleos essenciais foram armazenados em frasco de vidro de 15 mL vedados e conservados em ambiente refrigerado na ausência de luz.

A identificação das substâncias que compõe o óleo essencial foi realizada através de um cromatógrafo a gás acoplado a espectrometria de massas - CG-MS - (Shimadzu QP2010), operando por impacto de elétrons (70 eV) e hélio como gás de arraste.

A metodologia de análise pelo CG-MS foi efetuada com fluxo de 1 mL min⁻¹; temperatura do detector de 220°C, temperatura do injetor de 240°C; modo split de injeção 1:20; temperatura do forno programado de 60 a 246°C e taxa de 3°C min⁻¹, conforme Adams (2007).

2.3 – Análise dos dados

Para avaliar os resultados dos óleos essenciais, com os espectros de massas obtidos, foi utilizada metodologia descrita em Silva (2018), na qual foi feita uma comparação entre os padrões de fragmentação das amostras com os padrões das bibliotecas NIST08, NIST147, WILEY139, WILEY229 E SHIM2205 presentes no software LabSolution-GCMS Solution v. 1.02 - Shimadzu Corp para identificação dos compostos. O software apresenta um índice de similaridade (SI) resultante da comparação entre os espectros dos compostos sugeridos pelas bibliotecas. Foi considerado para a análise apenas os índices de similaridade com valores superiores a 90%. O software disponibiliza o perfil do cromatograma, onde os componentes químicos são representados por picos. O TIC - Cromatograma de Íons Totais – representa a concentração de cada componente correspondente à área relativa de seu pico no cromatograma.

Posteriormente foi realizado o cálculo do índice aritmético (IA) que correlaciona o tempo de retenção (RT) dos compostos analisados aos de alcanos. No cálculo são considerados os tempos de retenção do alcano anterior ($t(P_z)$) e posterior ($t(P_z + 1)$), o tempo de retenção do composto analisado ($t(x)$) e o número de carbono do alcano com tempo de retenção anterior ao analisado (P_z). A Tabela 2 mostra o tempo de retenção dos alcanos utilizados para o cálculo do índice aritmético (IA).

Tabela 2 - Tempos de retenção dos alcanos utilizados para o cálculo do índice aritmético na análise por GC-EM.

Número de carbonos	TR (min)	Número de carbonos	TR (min)
C10	7,707	C21	50,541
C11	11,900	C22	53,645
C12	15,583	C23	56,626
C13	21,00	C24	59,497
C14	24,429	C25	62,267
C15	28,40	C26	65,134
C16	32,761	C27	68,554
C17	36,616	C28	72,830
C18	40,349		

Nota: TR tempo de retenção

O IA foi calculado conforme Adams (2007), através da equação a seguir:

$$IA(x) = 100 (\text{n}^\circ \text{ de carbonos do Pz}) + 100 \left(\frac{t(x) - t(\text{Pz})}{t(\text{Pz} + 1) - t(\text{Pz})} \right)$$

Foi utilizado o tempo de retenção do composto analisado e dos padrões de alcanos (C10-C33) previamente injetados utilizando a mesma metodologia. Com o resultado do IA calculado foi realizada a identificação do composto pela comparação com os resultados dos compostos isolados tabelados por Adams (2007) e pela NIST Standard Reference Data.

3 – RESULTADOS

O rendimento da extração, bem como a quantidade de óleo essencial das folhas de *E. urograndis* obtida por hidrodestilação são apresentados na Tabela 3. O rendimento obtido neste estudo variou de 0,29% para folhas maduras, até 0,50% para folhas jovens.

Tabela 3 - Rendimento do processo de extração do óleo essencial por hidrodestilação das folhas de *Eucalyptus. urograndis*.

Tratamento	Massa vegetal (g)	Óleo (g)	Umidade (%)	Rendimento (%)
Folha nova sem injúria	50 ± 2,0	0,0995 ± 0,0031	60,7 ± 2,42	0,50 ± 0,02
Folha nova com injúria	50 ± 2,0	0,1004 ± 0,0064	60,7 ± 2,42	0,50 ± 0,03
Folha madura sem injúria	50 ± 2,0	0,0820 ± 0,0123	55,37 ± 3,16	0,37 ± 0,05
Folha madura com injúria	50 ± 2,0	0,0654 ± 0,0075	55,37 ± 3,16	0,29 ± 0,03

O perfil cromatográfico do óleo essencial obtido por CG-MS, representado na Figura 10, demonstra a variação do tempo de retenção dos componentes de acordo com os tratamentos realizados, possuindo valores entre 8,44 a 34,32 minutos, conforme Tabela 4.

Tabela 4 – Tempo de retenção dos compostos obtidos pela extração do óleo essencial de folhas de *Eucalyptus urograndis* por CG-MS

Tratamento	Tempo retenção inicial (min)	Tempo retenção final (min)
Folha nova sem injúria	8,44 ± 0,05	34,29 ± 0,03
Folha nova com injúria	8,45 ± 0,04	34,28 ± 0,01
Folha madura sem injúria	8,59 ± 0,02	34,32 ± 0,05
Folha madura com injúria	8,44 ± 0,01	34,26 ± 0,003

No perfil cromatográfico da Figura 10 há 42 picos numerados referentes aos íons de cada composto obtido pelo CG-MS.

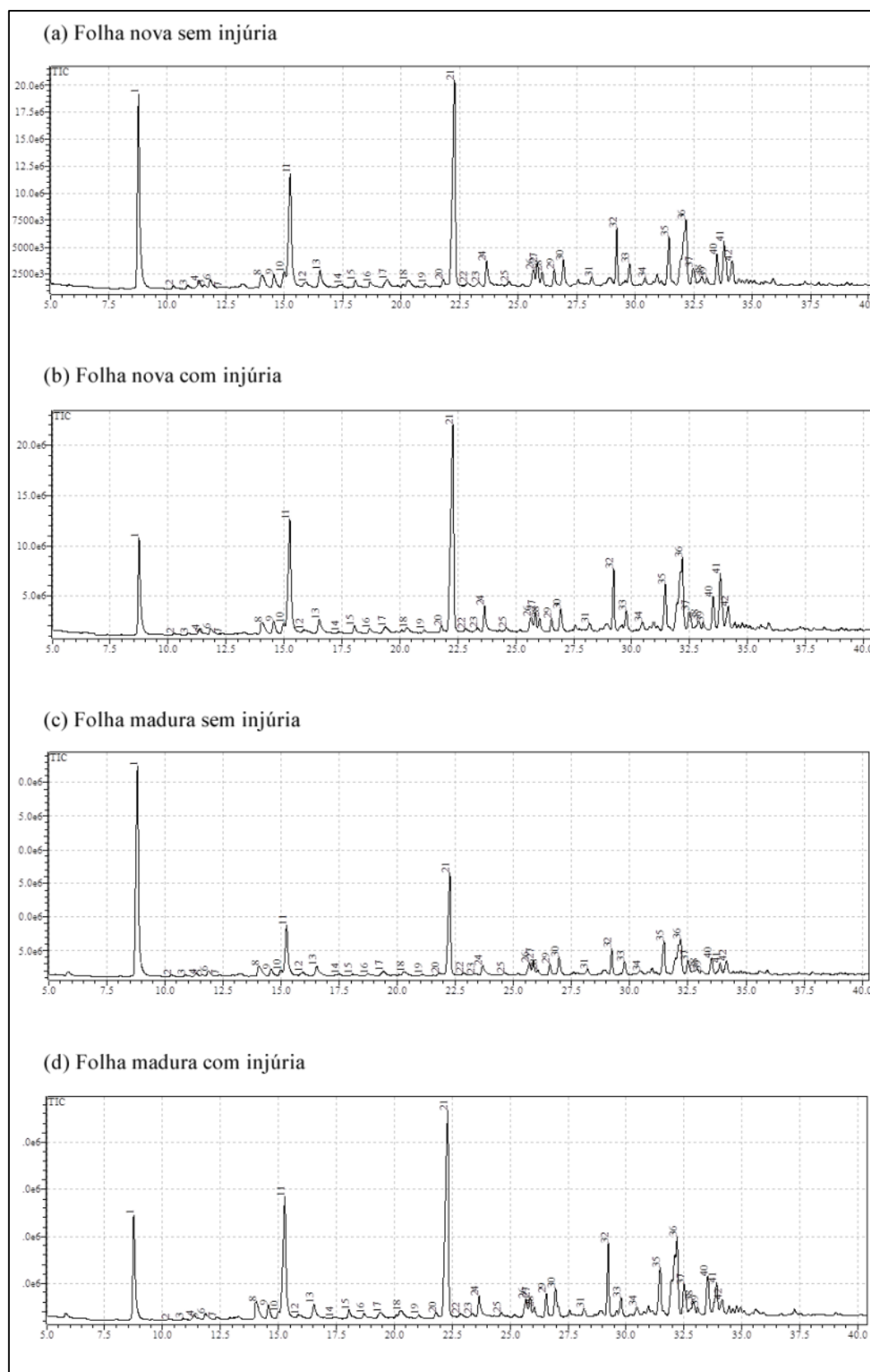


FIGURA 10 - Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de *Eucalyptus urograndis*. Expansão (5,0 a 40,0 minutos) demonstrando maior concentração dos compostos 1 (Eucalyptol), 11 (α -Terpineol) e 21 (α -Terpinyl acetate). O eixo X representado pelo tempo de retenção em minutos, e o eixo Y, o percentual de TIC.

A Tabela 5 apresenta os números dos picos, nomes dos compostos e o TIC - Cromatograma de Íons Totais – concentração de cada componente correspondente à área relativa de seu pico no perfil cromatográfico.

Tabela 5 - Tabela de percentagem de Cromatograma de Íons Totais (TIC = Total Ion Chromatogram) da composição química do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis*.

(continua)

Pico	Composto			TIC (%) médio			
				Folha nova sem injúria	Folha nova com injúria	Folha madura sem injúria	Folha madura com injúria
01	Eucaliptol			28,16	10,36	20,33	7,59
02	Linalool	oxide	<cis->	0,25	0,20	0,19	0,13
03	Linalool	oxide	<trans->	0,29	0,19	0,22	0,16
04	Linalool			0,60	0,57	0,57	0,49
05	NI			0,40	0,06	0,1	0,05
06	Fenchol		<endo->	0,63	0,54	0,69	0,56
07	Campholenal		<alpha->	0,26	0,06	0,18	0,16
08	Borneol			1,31	1,80	2,08	2,38
09	Terpinen-4-ol			0,99	1,18	1,43	1,38
10	p-Cymen-8-ol			1,17	0,85	0,55	0,50
11	α-Terpineol			10,85	11,90	11,49	13,73
12	NI			1,48	0,55	0,58	0,48
13	2-hydroxy-1,8-cineole			3,08	1,68	1,59	1,46
14	Neral			0,48	0,27	0,27	0,23
	Carvone*						
15	Geraniol			0,55	0,76	0,90	1,04
16	Geranial			1,14	0,55	0,52	0,58
17	NI			1,48	1,02	0,94	0,92
18	NI			1,52	0,74	1,12	1,13
19	Verbenyl acetate		<trans->	0,18	0,21	0,17	0,19
20	Exo-2-Hydroxycineole acetate			0,53	0,61	0,48	0,56
21	α-Terpinyl acetate			14,24	21,06	17,62	21,96
22	NI			0,35	0,33	0,34	0,37
23	Alpha-copaene			0,27	0,40	0,30	0,38
24	Geranyl acetate			1,67	2,26	1,65	1,89
25	NI			0,82	0,33	0,32	0,48
26	Carvone hydrate			1,27	1,53	1,49	1,55
27	NI			1,02	1,15	1,20	0,91

Tabela 5 – Tabela de percentagem de Cromatograma de Íons Totais (TIC = Total Ion Chromatogram) da composição química do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis*.
(conclusão)

Pico	Composto	TIC (%) médio			
		Folha nova sem injúria	Folha nova com injúria	Folha madura sem injúria	Folha madura com injúria
28	Aromadendrene	0,70	1,05	0,49	0,71
29	NI	1,10	1,11	1,08	1,38
30	NI	1,70	2,02	2,40	2,61
31	NI	0,59	0,73	0,59	0,65
32	Geranyl isobutyrate	2,26	3,6	3,22	4,44
33	NI	1,13	1,59	1,25	1,27
34	Flavesone	0,39	0,71	0,49	0,67
35	8-acetoxy-Carvotanacetone	2,84	3,99	3,49	3,61
36	Spathulenol	7,25	12,2	10,75	12,37
	Caryophyllene oxide **				
	Globulol **				
37	Viridiflorol	0,9	1,55	2,14	2,82
38	NI	0,49	0,83	0,77	0,94
39	Humulene epoxide II	0,28	0,48	0,35	0,55
40	Leptospermone<iso->	1,58	2,64	2,39	3,21
41	NI	2,52	4,64	1,88	2,43
42	Isobornyl isobutanoate<5-hydroxy->	1,16	1,62	1,29	0,97

NI – componente não identificado. * - Carvone misturado com Neral. ** - Caryophyllene oxide e Globulol misturados com Spathulenol.

Foi possível identificar 29 compostos pela análise no GC-MS nos óleos essenciais das folhas de *E. urograndis*. Dentre os compostos, há predominância de monoterpenos tais como Eucaliptol, Linalool, Borneol, α -Terpineol, Neral, Carvone, Geraniol e α -Terpinyl acetate, seguido pelos sesquiterpenos Alpha-copaene, Aromadendrene, Spathulenol, Caryophyllene oxide, Globulol e Viridiflorol.

Conforme Tabela 5, os compostos 1, 11 e 21 (Eucaliptol, α -Terpineol e α -Terpinyl acetate, respectivamente) apresentaram as maiores concentrações em todos os óleos essenciais extraídos neste estudo. A concentração do Eucaliptol variou entre 7,59 a 28,16%, de α -Terpineol variou entre 10,85 a 13,73%, e de α -Terpinyl acetate variou entre 14,24 a 21,96%.

Neste capítulo, o resultado da concentração das folhas novas com injúria do pico 36 foi de 12,2%, sendo superior ao Eucaliptol (10,36%) e ao α -Terpineol (11,9%), e nas folhas maduras com injúria apresentou concentração de 12,37%, resultado superior ao Eucaliptol (7,59%). No entanto, o perfil cromatográfico do CG-MS indicou que este pico se trata de uma

mistura de Spathulenol com Caryophyllene oxide e Globulol. Desta forma, o composto 36 não foi incluído na Figura 11, que relaciona os compostos identificados e com maior composição no óleo essencial de *E. urograndis*. A soma destes compostos é representativa, pois totaliza quase 50% do volume do óleo essencial.

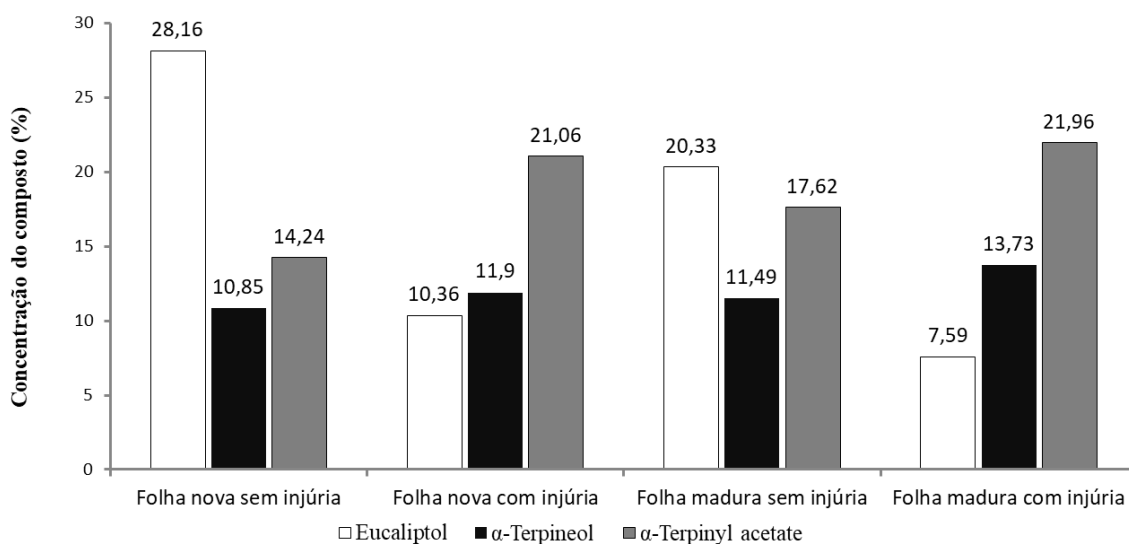


FIGURA 11 - Concentração (%) dos principais compostos encontrados no óleo essencial de *Eucalyptus urograndis*.

Na relação de compostos identificados na Tabela 5, os componentes 28 e 42 (Aromadendre e Isobornyl isobutanoate<5-hydroxy->, respectivamente), apesar de possuírem baixa composição, estão entre os 16 principais compostos que somam aproximadamente 80% da composição do óleo essencial de *E. urograndis*. Aromadendre e Isobornyl isobutanoate<5-hydroxy-> tiveram alteração expressiva em seu percentual de composição com as injúrias e resultou em maior concentração nas folhas novas com injúria, conforme Figura 12.

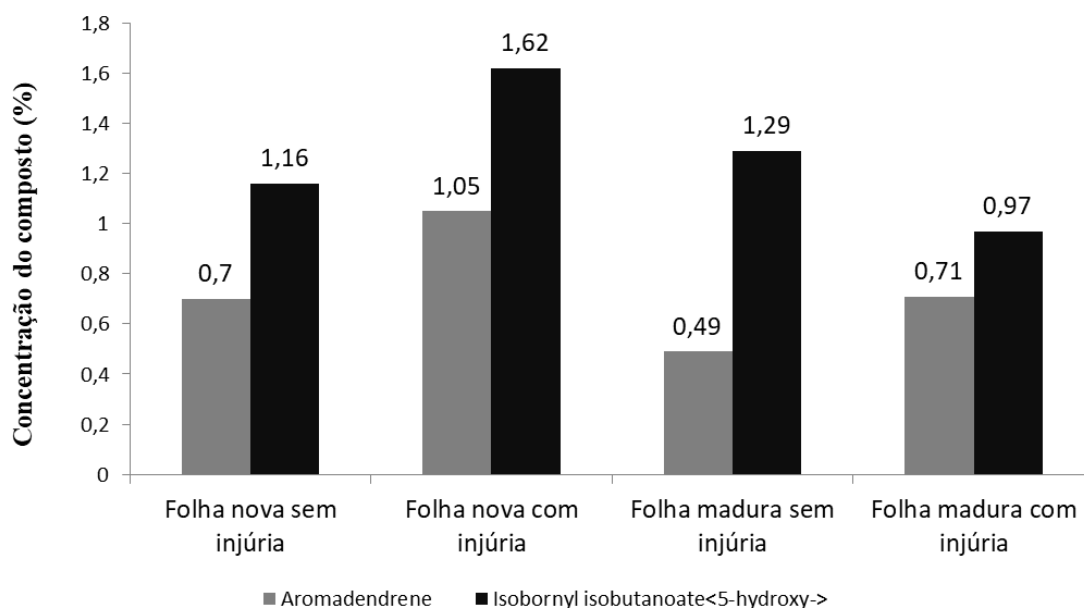


FIGURA 12 - Composição (%) de compostos do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* que tiveram aumento da concentração na Folha Nova após a injúria

A Tabela 6 demonstra a variação percentual dos principais compostos e dos compostos que aumentaram a concentração no óleo essencial das folhas jovens de *E. urograndis* após a injúria.

Tabela 6 - Tabela de variação da percentagem de Cromatograma de Íons Totais (TIC = Total Ion Chromatogram) conforme a injúria dos componentes do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis*.

Pico	Composto	TIC (%) médio					
		Folha nova sem injúria	Folha nova com injúria	Variação folha nova	Folha madura sem injúria	Folha madura com injúria	Variação folha madura
01	Eucaliptol	28,16	10,36	-63,20 %	20,33	7,59	-62,70 %
11	α -Terpineol	10,85	11,90	9,60 %	11,49	13,73	19,50 %
21	α -Terpinyl acetate	14,24	21,06	47,90 %	17,60	22,00	25,00 %
28	Aromadendre	0,70	1,05	50,00 %	0,49	0,71	44,90 %
42	Isobornyl isobutanoate<5-hydroxy->	1,16	1,62	39,66 %	1,29	0,97	-24,81 %

Quando as folhas de *E. urograndis* são perfuradas para simulação da herbivoria, os resultados demonstram aumento da produção de α -Terpineol (folha nova com aumento do TIC em 9,6%, folha madura com aumento do TIC em 19,5%) e principalmente α -Terpinyl

acetate (folha nova com aumento do TIC em 47,9%, folha madura com aumento do TIC em 25%). Ocorre também expressiva diminuição da produção de Eucaliptol (folha nova com redução do TIC em 63,2%, folha madura com redução do TIC em 62,7%). Com a injúria nas folhas novas, ocorreu aumento de 50,00% de Aromadendrene e 39,66% de Isobornyl isobutanoate<5-hydroxy->. Injúria nas folhas maduras resultaram em aumento em 44,90% de Aromadendrene e redução de Isobornyl isobutanoate<5-hydroxy-> em 24,81%.

4 – DISCUSSÃO

Entre as cerca de 600 espécies de eucalipto conhecidas, pouco mais de 200 tiveram estudos sobre a produção e teor de óleo essencial, e menos de 20 espécies têm sido citadas na exploração comercial (VITTI & BRITO, 2003). Em levantamento realizado por estes autores, *E. urograndis* não consta na relação das principais espécies de eucalipto utilizadas para produção de óleo essencial, provavelmente por não possuírem rendimento de extração suficiente para justificar a exploração comercial de seu óleo essencial.

Pereira (2010) coletou folhas em pontos aleatórios da copa de indivíduos adultos de *E. urograndis* e encontrou rendimento de 1,56%. O resultado encontrado por este autor foi expressivo quando comparado às três espécies de maior rendimento no Brasil, *Eucalyptus citriodora* Hook, *Eucalyptus globulus* Labill e *Eucalyptus staigeriana* F.Muell, com 1 a 1,6%, 1,7 a 2% e 1,4% respectivamente (VITTI & BRITO, 2003).

No entanto, outros estudos possuem resultados de rendimento semelhantes aos encontrados deste capítulo quanto às folhas maduras. Goldbeck et al. (2014) utilizaram folhas da copa de indivíduos *E. urograndis* de 19 meses e encontraram 0,29% de rendimento do óleo essencial. Bonora (2016) avaliou folhas maduras de *E. urograndis* e encontrou o resultado de 0,20% de rendimento de óleo essencial.

No presente estudo, o rendimento encontrado do óleo essencial de folhas maduras de *E. urograndis* não é elevado quando comparado a outras espécies de eucalipto, ao passo que o rendimento do óleo de folhas jovens foi considerado mediano, conforme resultados de outros estudos. Müller da Silva et al. (2006) avaliaram o rendimento de 11 espécies de eucalipto, sendo que *E. citriodora*, *Eucalyptus viminalis* Labill e *E. globulus* alcançaram os melhores resultados, 1,70%, 1,56% e 1,07% e os piores resultados foram encontrados para *Eucalyptus pellita* F. Muell e *Eucalyptus cloeziana* F. Muell, sendo 0,00% e 0,12% respectivamente. Em avaliação de óleos essenciais de 12 espécies de eucalipto, Bonora (2016) encontrou maiores rendimentos em *E. staigeriana* F.Muell e *E. citriodora*, com 1,6% e 1,3% e menores rendimentos em *Corymbia ptychocarpa* F.Muell e *Eucalyptus saligna* Smith, com 0,021 e 0,11% respectivamente.

O rendimento dos óleos essenciais, juntamente com o uso e aplicação a que se destina, é um dos fatores que tornam a espécie relevante para exploração (VITTI & BRITO, 2003). Maffeis et al. (2000) e Costa et al. (2008) demonstraram que condições climáticas, fertilidade do solo e estresse biótico não afetam significativamente o rendimento e porcentagem dos constituintes presentes nos óleos essenciais, porém Silva et al. (2006) e Vitti & Brito (2003)

relatam o contrário. Segundo estes últimos autores, a variabilidade genética, a idade da folha, as condições ambientais, o tipo de manejo florestal e os processos de extração e análise do óleo são fatores relevantes para o rendimento e obtenção dos óleos essenciais de eucalipto.

Quanto à influência da idade da folha de eucalipto sobre a produção de óleo essencial ainda não existe uma tendência clara, sendo necessários mais estudos para clarificação sobre o tema (VITTI & BRITO, 2003). Neste sentido, os resultados deste capítulo têm importante contribuição, pois foi encontrada variação do rendimento e maior produção de óleo essencial em folhas jovens, corroborando com estudos de Silvestre et al. (1997) e Li et al. (1994) que encontraram maior rendimento de óleo essencial em folhas jovens de *E. globulus* e *Eucalyptus nitens* H.Deane & Maiden, respectivamente.

Os tempos de retenção em folhas de *E. urograndis* encontrados por Araújo et al. (2010) e Goldbeck et al. (2014) foram 8,16 a 25,25 minutos e 4,66 e 23,92 minutos. Os resultados encontrados aqui, 8,44 a 34,32 minutos, possuem variação em relação a outros estudos devido ao fato das metodologias de análise no GC-MS serem diferentes, o que limita nossas comparações.

Neste estudo foram identificados 29 compostos pela análise no GC-MS, quantidade superior a outros estudos, como Goldbeck et al. (2014), Bonora (2016), Araújo et al. (2010) e Pereira (2010) que identificaram 21, 17, 10 e 10 compostos, respectivamente. Esta variação na identificação entre os estudos se dá devido às diferenças na metodologia de extração bem como nas próprias plantas utilizadas na análise, pois conforme Darrow e Bowers (1997), apesar da existência de um controle genético, as variações sazonais, diárias, intraplanta, inter e intraespecífica podem influenciar o conteúdo total e as proporções dos compostos de metabólitos secundários das plantas.

Araújo et al. (2010) e Goldbeck et al. (2014) também encontraram predominância de monoterpenos e sesquiterpenos em seus estudos de óleo essencial de folhas de *E. urograndis*, corroborando os resultados encontrados neste capítulo. Vitti & Brito (2003) também relatam a predominância de compostos terpênicos - mono e sesquiterpenos nos óleos essenciais de plantas. Segundo Harbone (1991), estes compostos estão relacionados a funções do metabolismo vegetal, podendo ser encontrados em hormônios, estruturas da membrana e são ainda, conforme Andrew (2013), Lawler et al. (1999) e Marsh et al. (2006) importantes nas interações diretas e indiretas com herbívoros e outros organismos.

A predominância de Eucaliptol, α -Terpineol e α -Terpinyl acetate encontrada neste capítulo vai de encontro aos resultados de Bonora (2016) em estudo realizado com folhas maduras de *E. urograndis*, em que estes mesmos compostos tiveram maior concentração,

sendo Eucaliptol, α -Terpineol e α -Terpinyl acetate com 17,7, 17,8 e 15,6%, respectivamente. No entanto, Goldbeck et al. (2014) encontraram maior percentual de concentração de Eucaliptol, α -Pinene, Limonene e α -Terpinyl acetate com 36,18, 17,45, 8,13 e 7,95% respectivamente. O composto α -Terpineol foi identificado por este autor, porém com concentração inferior à encontrada neste capítulo (5,75%). Araújo et al. (2010) identificaram maior concentração dos compostos *orto*-Cimeno e Eucaliptol com 41,4 e 25,8%, respectivamente. Estes autores também identificaram α -Terpineol e α -Terpinyl acetate, ambos com concentração de 1,4%, ou seja, quantidade inferior ao encontrado neste capítulo. Esta variação entre os compostos é corroborada por Boland et al. (1991), que esclarece ser comum a existência de variações qualitativas entre indivíduos da mesma espécie, devido a aspectos genéticos, ambientais, folhas selecionadas e das técnicas de extração e análise dos óleos essenciais.

O monoterpeno Eucaliptol, também conhecido por 1,8-cineol, possui ampla aplicação em fragrâncias, aromas, farmacológicas, anti-inflamatórias e anti-helmínticas e, no Brasil, a principal espécie fornecedora deste composto para a indústria é o *E. globulus*, que possui de 60 a 85% de concentração em seus óleos essenciais (STEFFANI, 2010, VITTI & BRITO, 2003). A aplicação do Eucaliptol para o controle de artrópodos já foi demonstrada por outros estudos. Rossi & Palacios (2015) verificaram a eficiência do composto para o controle de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). Lee et al. (2000) estudaram a eficiência deste composto no controle de besouros *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Cucujidae). Prates et al. (1998) obtiveram 100% de controle das larvas do carrapato *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae). Obeng-Ofori et al. (1997) verificaram o caráter repelente do composto em pragas de grãos armazenados, tais como *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) e *S. zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae). Koul et al. (2013) identificaram propriedade impeditivas da oviposição do eucaliptol em posturas de fêmeas adultas de *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) e *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Pyralidae). Watanabe et al. (2016) identificou o composto 1,8-cineol em “honeydew” de *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae). Segundo este autor, muitos insetos inimigos naturais utilizam o volátil de “honeydew” para localização de seus hospedeiros ou presas. Duelli (1987) demonstrou que as larvas e adultos de *C. carnea* são atraídos por “honeydew” de pulgões “walnut”.

Segundo Surburg & Panten (2006), o α -Terpineol é um importante produto comercial com odor bastante utilizado em fragrâncias, sabonetes e cosméticos. Tem várias aplicações

para a saúde sendo anti-hipertensivo, com atividade antioxidante, anticâncer e antibronquite (KHALEEL et al., 2018). Possui ação antifúngica, conforme o estudo de Zhou et al. (2014) sobre *Geotrichum candidum* var. *citri-aurantii* (Ferraris), causador da doença cítrica denominada “podridão azeda”. Peng et al. (2015) verificou a atividade contra o ácaro *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) (Mesostigmata: Varroidae), conhecido por infestar colméias de abelhas em todos os continentes, exceto a Austrália, causando impactos na saúde das abelhas com morte em larga escala de larvas e pupas por alimentação com hemolinfa. Regnault-Roger & Hamraoui (1995) também demonstraram toxicidade do α -Terpineol contra o besouro, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) incluindo inibição à oviposição, à fecundidade das fêmeas e ao desenvolvimento de larvas do inseto. Zhu et al. (1999) demonstrou a atração do predador *Coleomegilla maculata* De Geer (Coleoptera: Coccinellidae) por armadilhas compostas por α -Terpineol, ao contrário de *C. carnea* que não foi capturada em armadilhas com este composto.

Devido às suas propriedades odoríferas, estabilidade e preço baixo, o α -Terpinyl acetate é bastante utilizado em perfumaria para os odores de lavanda e bergamota, bem como em reconstituições de óleos essenciais (SURBURG & PANTEN, 2006). Segundo Kovanci & Walgenbach (2005), o monitoramento de populações da mariposa oriental *Grapholita molesta* Busck (Lepidoptera: Tortricidae), principal praga das culturas de pêssigo e nectarinas no mundo, é um componente essencial dos programas integrados de manejo de pragas e durante muitos anos foi feito através de uma mistura de solução de α -Terpinyl acetate com açúcar fermentado em baldes colocados no dossel inferior destas culturas.

Estudo realizado por Kovanci & Walgenbach (2005) demonstrou que o α -Terpinyl acetate misturado com solução de açúcar mascavo é atraente para ambos os sexos de *G. molesta* e representou problema prático em sua pesquisa devido à captura de moscas, outras mariposas da família Noctuidae e Tortricidae, e vespas da família Vespidae. Il'ichev et al. (2009) verificou que as armadilhas contendo solução de α -Terpinyl acetate com açúcar mascavo, capturaram machos e fêmeas de *G. molesta*, ao passo que as armadilhas com outros produtos sintéticos atraíram apenas machos.

Batish (2008) relata que o Aromadendrene é um dos compostos do óleo essencial de eucalipto que contribui para sua atividade pesticida. Moraes et al. (2017), em estudo da toxicidade de compostos de óleo essencial de espécies do gênero *Ocotea* (Lauraceae) sobre o ácaro *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), verificou que a remoção do Aromadendrene do conteúdo do óleo essencial levou a uma redução drástica na mortalidade do ácaro, indicando que esse sesquiterpeno contribuiu para a toxicidade do óleo.

Mulyaningsih et al. (2010) examinaram o potencial de ação sobre *Staphylococcus aureus* (MRSA) e *Enterococcus faecalis* (VRE) dos compostos isolados Aromadendrene e Eucaliptol e de sua atuação em conjunto. Os resultados demonstraram baixa atividade antimicrobiana de Eucaliptol quando atuou isoladamente. Aromadendrene, ao contrário, mostrou alto potencial antimicrobiano em atuação isolada e, quando em conjunto com Eucalyptol, produziu efeito ainda maior para o controle destas espécies.

O composto Isobornyl isobutanoate <5-hydroxy-> foi encontrado neste estudo em concentração superior ao Aromadendrene, variando de 0,97% a 1,62%. Não foi encontrado na literatura relato deste composto em óleos essenciais de espécies de eucalipto. Em avaliação do óleo essencial de galhos das espécies, *Xylopiya malayana* (Annonaceae), *Xylopiya elliptica* (Annonaceae) and *Xylopiya fusca* (Annonaceae), Ghani et al. (2016) encontraram este composto em óleo apenas em *X. elliptica*, com baixa concentração, sendo 0,3%. Em análise do óleo essencial de *Lycopus lucidus* Turcz. var. *hirtus* Regel (Lamiaceae), Yu et al. (2010) encontraram baixa concentração deste composto (0,13%).

O efeito de voláteis de outros compostos encontrados no óleo essencial de *E. urograndis* em inimigos naturais foi observado por Flint et al. (1979). Este autor identificou o Caryophyllene como importante atrativo de *C. carnea* e Caryophyllene oxide como atrativo para o predador *Collops vittatus* (Coleoptera: Melyridae).

Os resultados deste capítulo demonstraram que as folhas de *E. urograndis* responderam à herbivoria simulada através da alteração da concentração dos compostos de seu óleo essencial, corroborando com Turlings et al. (1990). Além disso, tal resposta influenciou o comportamento de escolha de *C. externa* no estudo do segundo capítulo desta tese, em conformidade com Turlings & Wäckers (2004) ao afirmarem que as observações comportamentais e as análises químicas indicam fortemente que os voláteis induzidos das plantas desempenham papel fundamental na localização do hospedeiro ou da presa pelos inimigos naturais.

Os resultados do segundo capítulo desta tese demonstram preferência de *C. externa* aos odores de folha nova de *E. urograndis* com injúria. Considerando apenas a variação dos compostos Eucalyptol, α -Terpineol e α -Terpinyl acetate após a injúria em folhas novas e maduras demonstrada na Figura 11, não é possível sugerir que a preferência de escolha pelas larvas de *C. externa* tenha sido realizada apenas pelos componentes em maior concentração no óleo essencial de *E. urograndis*, pois não houve redução nem aumento expressivo na concentração destes compostos nas folhas novas com injúria. Além do mais, tal resultado contradiz com o fato da composição do óleo essencial ser formada por compostos com

conhecida ação contra insetos, tais como Eucalyptol, α -Terpineol e Aromadendrene (BATISH, 2008, LEE et al. 2000, OBENG-OFORI et al., 1997, PENG et al., 2015 e ROSSI & PALACIOS, 2015).

Quanto ao α -Terpinyl acetate, estudos tem demonstrado seu potencial de uso como atrativo de lepidópteros para monitoramento integrado de pragas (IL'ICHEV et al., 2009, KOVANCI & WALGENBACH, 2005). Porém Kovanci (2016) em seu estudo com *Cydia pomonella* L (Lepidoptera: Tortricidae), demonstrou que o efeito repelente em larvas e adultos desta espécie foi maior nos ensaios em que o Eucaliptol e o α -Terpinyl acetate atuaram em conjunto, do que nos ensaios em que o Eucaliptol atuou de maneira isolada. Desta forma, com os estudos avaliados, isoladamente o α -Terpinyl acetate possui caráter atrativo a determinados grupos de insetos, porém em conjunto com Eucalyptol atua como repelente. Outro exemplo de ação diferencial do composto isolado e em conjunto é o resultado encontrado por Mulyaningsih et al. (2010), em que demonstra a potencialização da ação antimicrobiana do Aromadendrene quando em conjunto com Eucaliptol.

Os resultados de escolha da larva de *C. externa* e a avaliação da composição do óleo essencial de *E. urograndis*, demonstram que é um erro inferir sobre o efeito do óleo essencial considerando apenas os compostos isoladamente, corroborando com Miresmailli et al. (2006). Este autor identificou compostos do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) em atuação sinérgica, aumentando a ação de outro composto e, antagônica, atenuando ou até neutralizando a ação de outro composto. Singh et al. (2009) também enfatiza a importância do efeito sinérgico de misturas complexas na defesa das plantas contra herbivoria, e onde frequentemente é observado que as composições complexas de óleos essenciais são mais eficazes que os compostos puros. Além do efeito de antagonismo e sinergia, Mostafiz et al. (2019) também demonstrou que compostos presentes em óleo essencial podem atuar como inseticidas ou repelentes para algumas espécies e não produzirem efeitos danosos em outras. Em seus estudos, verificaram que methyl benzoate, ethyl benzoate e vinyl benzoate, que são compostos voláteis presentes nos óleos essenciais de várias espécies de plantas, são tóxicos para *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) e possuem baixa toxicidade a *C. carnea*, recomendando seu uso em baixas dosagens para efetuar o controle do afídeo e manter a população de *C. carnea*.

Além de conhecer os compostos químicos e suas atuações sinérgicas e antagônicas, é necessário conhecer também os efeitos dos compostos sobre o metabolismo dos insetos, com o objetivo de identificar as razões pelas quais um composto ou combinação de compostos é inseticida ou repelente para algumas espécies e não o é para outras. Alguns insetos são

capazes de realizar a desintoxicação de compostos, convertendo compostos tóxicos em menos tóxicos. Lee et al. (2000) identificaram que enzimas desintoxicantes, como citocromo P450 e esterases, foram capazes de aumentar a tolerância de besouros *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Cucujidae) ao composto 1,8 cineol. Rossi & Palacios (2015) demonstraram que a inibição ao citocromo P450 promoveu aumento da toxicidade de 1,8 cineol em *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae).

Torna-se necessária a realização de estudos adicionais para identificar o efeito dos compostos e combinações dos compostos do óleo essencial de *E. urograndis* discutidos nesta tese, sobre a resposta de comportamento de *C. externa*. Esta avaliação permitirá maior conhecimento sobre os efeitos sinérgicos, antagônicos e o papel dos compostos em diferentes combinações e concentrações na preferência de escolha das larvas de *C. externa* pelas folhas novas de *E. urograndis* com injúria. Os resultados contribuirão para identificar o potencial de uso das florestas desta espécie como mantenedoras naturais de populações de *C. externa*.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / quadrupole mass spectroscopy**. ed. Carol Stream: Allured Bussiness Media, 2007. 804 p.
<https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.007>

ANDREW, R. L.; KESZEI, A. & FOLEY, W. J. **Intensive sampling identifies previously unknown chemotypes, population divergence and biosynthetic connections among terpenoids in *Eucalyptus tricarpa***. *Phytochemistry*, v. 94, p. 148-158, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.05.002>

ARAÚJO, F. O. L.; RIETZLER, A. C.; DUARTE, L. P.; SILVA, G. D. F.; CARAZZA, F. & FILHO, S. A. V. **Constituintes químicos e efeito ecotoxicológico do óleo volátil de folhas de *Eucalyptus urograndis* (Mirtaceae)**. *Quím. Nova*, vol. 33, n. 7, p. 1510–1513, 2010.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000700016>

BALDWIN, I. T. **Herbivory simulations in ecological research**. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 5, p. 91–93, 1990. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(90\)90237-8](https://doi.org/10.1016/0169-5347(90)90237-8)

BANDONI, A. L. & CZEPACK, M. P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil**. Vitória: Edufes, 624p, 2008.

BASSOLÉ, I. H. N. & JULIANI, H. R. **Essential Oils in Combination and their antimicrobial properties**. *Molecules*. 17: 3989-4006, 2012.
<https://doi.org/10.3390/molecules17043989>

BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K. & KAUR, S. **Eucalyptus essential oil as a natural pesticide**. *Forest Ecol. Manag.* 256: 2166-2174, 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C. & REZENDE, C. M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas**. *Química nova*, 32(3), 588-594, 2009.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300005>

BOLAND, D. J.; BROPHY, J. J. & HOUSE, A. P. N. **Eucalyptus leaf oils: use, chemistry, distillation and marketing**. Melbourne: INKATA; ACIAR; CSIRO, 247 p, 1991.

BONORA, F. S. **Prospecção de compostos químicos presentes nos óleos essenciais das folhas e flores de eucalipto**. 2016. 85 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

COSTA, L. C. D. B.; PINTO, J. E. B. P.; CASTRO, E. M. D.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CORRÊA, R. M.; REIS, É. S.; ALVES, P. B. & NICULAU, E. D. S. **Tipos e doses de adubação orgânica no crescimento, no rendimento e na composição química do óleo essencial de elixir paregórico**. *Ciência Rural*, 38(8), 2173-2180, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000800013>

DARROW, K. & BOWERS, M. D. **Phenological and population variation in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae)**. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 24, p. 1-11, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(96\)00090-7](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(96)00090-7)

DORMAN, H. J. D. & DEANS, S. G. **Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils**. *J. Appl. Microbiol.* 88: 308-316, 2000. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>

DUELLI, P. **The influence of food on the oviposition-site selection in a predatory and a honeydew-feeding lacewing species (*Plannipennia*: Chrysopidae)**. *Neuroptera Int* 4:205–210, 1987.

FLINT, H. M.; SALTER, S. S. & WALTERS, S. **Caryophyllene: an attractant for the green lacewing**. *Environmental Entomology*, 8(6), 1123-1125, 1979. <https://doi.org/10.1093/ee/8.6.1123>

GHANI, S. H. A.; ALI, N. A. M.; JAMIL, M.; MOHTAR, M.; JOHARI, S. A.; ISA, M. M. & PATAH, M. F. Z. **Chemical compositions and antimicrobial activity of twig essential oils from three *Xylopia* (Annonaceae) species**. *African Journal of Biotechnology*, 15(10), 356-362, 2016. <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14775>

GOLDBECK, J. C.; DO NASCIMENTO, J. E.; JACOB, R. G.; FIORENTINI, Â. M. & da SILVA, W. P. **Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*.** Industrial Crops and Products, 60, 304-309, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.030>

GOMES, S. P. & FAVERO, S. **Assessment of the insecticidal potential of *Eucalyptus urograndis* essential oil against *Rhodnius neglectus* Lent (Hemiptera: Reduviidae).** Neotropical entomology, 42.4: 431-435, 2013. <https://doi.org/10.1007/s13744-013-0144-2>

HARBORNE, J. B. **Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids.** In: Ecological Chemistry and Biochemistry of plant Terpenoids. Ed. Oxford: Claredon Press. p.399-426, 1991.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 9235:2013 - aromatic natural raw materials - Vocabulary.** Geneva: International Organization for Standardization, 2013.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 4720:2018 - essential oils - nomenclature.** Geneva: International Organization for Standardization, 2018.

IL'ICHEV, A. L.; KUGIMYA, S.; WILLIAMS, D. G. & TAKABAYASHI, J. **Volatile compounds from young peach shoots attract males of oriental fruit moth in the field.** Journal of Plant Interactions 4:289-294, 2009. <https://doi.org/10.1080/17429140903267814>

KHALEEL, C.; TABANCA, N. & BUCHBAUER, G. **α -Terpineol, a natural monoterpene: A review of its biological properties.** Open Chemistry, 16(1), 349-361, 2018. <https://doi.org/10.1515/chem-2018-0040>

KOUL, O.; SINGH, R.; KAUR, B. & KANDA, D. **Comparative study on the behavioural response and acute toxicity of some essential oil compounds and their binary mixtures to larvae of *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera litura* and *Chilo partellus*.** Industrial Crops and Products 49:428-436, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.032>

KOVANCI, O. B. **Feeding and oviposition deterrent activities of microencapsulated cardamom oleoresin and eucalyptol against *Cydia pomonella***. Chilean journal of agricultural research, 76(1), 62-70, 2016. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392016000100009>

KOVANCI, O. B. & WALGENBACH, J. F. **Monitoring the Oriental fruit moth with pheromone and bait traps in apple orchards under different management regimes**. International Journal of Pest Management 51:273-279, 2005. <https://doi.org/10.1080/09670870500270661>

LAWLER, I. R.; STAPLEY, J.; FOLEY, W. J. & ESCHLER, B. M. **Ecological example of conditioned flavor aversion in plant–herbivore interactions: effect of terpenes of *Eucalyptus* leaves on feeding by common ringtail and brushtail possums**. J. Chem. Ecol. 25, 401–415, 1999. <https://doi.org/10.1023/A:1020863216892>

LEE, S. E.; CHOI, W. S.; LEE, H. S. & PARK, B. S. **Cross-resistance of a chlorpyrifos-methyl resistant strain of *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Cucujidae) to fumigant toxicity of essential oil extracted from *Eucalyptus globulus* and its major monoterpene, 1,8-cineole**. J. Stored Prod. Res. 36, 383–389, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(99\)00059-4](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(99)00059-4)

LI, H.; MIADEN, J. L. & DAVIES, N. W. **Variation in leaf oils of *Eucalyptus nitens* and *E. denticulata***. Biochemical systematics and ecology, v.22, n.6, p.631-640, 1994. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(94\)90076-0](https://doi.org/10.1016/0305-1978(94)90076-0)

LUBBE, A. & VERPOORTE, R. **Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials**. Industrial crops and products, v. 34, n. 1, p. 785-801, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.01.019>

MAFFEIS, A. R.; SILVEIRA, R. L. V. de A. & BRITO, J. O. **Reflexos das deficiências de macronutrientes e boro no crescimento de plantas, produção e qualidade de óleo essencial em *Eucalyptus citriodora***. Scientia Forestalis, Piracicaba, n. 57, p. 87-98, 2000.

MAHUMANE, G.; VAN VUUREN, S.; VILJOEN, A. & KAMATOU, G.P.P. **The potential for *Eucalyptus radiata* leaf essential oil use as a commercial antimicrobial.** S Afr J.Bot. 98: 186-187, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.03.072>

MARSH, K. J.; WALLIS, I. R.; MCLEAN, S.; SORESENSEN, J. S. & FOLEY, W. J. **Conflicting demands on detoxification pathways influence how common brushtail possums choose their diets.** Ecology 87, 2103–2112, 2006. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[2103:CDODPI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[2103:CDODPI]2.0.CO;2)

MIRESMAILLI, S.; BRADBURY, R.; ISMAN, M. B. **Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants.** Pest Management Science: formerly Pesticide Science, 2006, 62.4: 366-371. <https://doi.org/10.1002/ps.1157>

MORAES, M. M.; CAMARA, C. A. D. & SILVA, M. **Comparative toxicity of essential oil and blends of selected terpenes of *Ocotea* species from Pernambuco, Brazil, against *Tetranychus urticae* Koch.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, 89(3), 1417-1429, 2017. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170139>

MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, P. M.; NASCIMENTO, E. A. & CHANG, R. **Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido à diferente grau de torra.** Química Nova, v. 32, n. 2, p. 327-331, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000200011>

MOSTAFIZ, M. M.; HASSAN, E.; SHIM, J. K. & LEE, K. Y. **Insecticidal efficacy of three benzoate derivatives against *Aphis gossypii* and its predator *Chrysoperla carnea*.** Ecotoxicology and environmental safety, 184, 109653, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109653>

MÜLLER DA SILVA, P. H.; BRITO, J. O. & DA SILVA JR, F. G. **Potential of eleven *Eucalyptus* species for the production of essential oils.** Scientia Agricola, Piracicaba:São Paulo, v. 63, n. 1, p. 85-89, Jan. 2006. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000100014>

MULYANINGSIH, S.; SPORER, F.; ZIMMERMANN, S.; REICHLING, J. & WINK, M. **Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens.** Phytomedicine, 17(13), 1061-1066, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.06.018>

NIST CHEMISTRY WEBBOOK, **NIST Standard Reference** Database Number 69, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard. Disponível em: <<https://www.nist.gov/pml/data/asd17>>. Acesso em: 11/01/2020.

OBENG-OFORI, D.; REICHMUTH, C. H.; BEKELE, J. & HASSANALI, A. **Biological activity of 1,8 cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles.** Journal of Applied Entomology, Hamburg, v. 121, n. 4, p. 237-243, 1997. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1997.tb01399.x>

PENG, G.; KASHIO, M.; MORIMOTO, T.; LI, T.; ZHU, J.; TOMINAGA, M. & KADOWAKI, T. **Plant-derived tick repellents activate the honey bee ectoparasitic mite TRPA1.** Cell reports, 12(2), 190-202, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.06.025>

PEREIRA, J. L. **Composição química dos óleos essenciais de espécies de *Eucalyptus* L'Herit (Myrtaceae).** 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; CRAVEIRO, A. A. & OLIVEIRA, A. B. **Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*).** Journal of the Brazilian Chemical Society, 9(2), 193-197, 1998. <https://doi.org/10.1590/S0103-50531998000200013>

REGNAULT-ROGER, C. & HAMRAOUI, A. **Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.).** Journal of Stored Products Research 31, 291-299, 1995. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(95\)00025-3](https://doi.org/10.1016/0022-474X(95)00025-3)

ROSSI, Y. E. & PALACIOS, S. M. **Insecticidal toxicity of *Eucalyptus cinerea* essential oil and 1, 8-cineole against *Musca domestica* and possible uses according to the metabolic response of flies.** Industrial Crops and Products, 63, 133-137, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.019>

SILVA, M. V. de S. G. da. **Composição química e atividade larvicida contra *Aedes aegypti* do óleo essencial da *Eugenia calycina*.** 120 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

SILVA, P. H. M. da; BRITO, J. O. & SILVA JUNIOR, F. G. da. **Potential of eleven *Eucalyptus* species for the production of essential oils.** Scientia Agrícola, Piracicaba, v. 63, n.1, p. 85-89, janeiro/fevereiro 2006. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000100014>

SILVESTRE, A. J.; CAVALEIRO, J. S.; DELMOND, B.; FILLIATRE, C. & BOURGEOIS, G. **Analysis of the variation of the essential oil composition of *Eucalyptus globulus* Labill. from Portugal using multivariate statistical analysis.** Industrial Crops and Products, 6(1), 27-33, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(96\)00200-2](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(96)00200-2)

SOUZA FILHO, A. P. D. S.; VASCONCELOS, M. A. M. D.; ZOGHBI, M. D. G. B. & CUNHA, R. L. **Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas.** Acta Amazônica, v. 39, n. 2, p. 389-396, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672009000200018>

STEFANELLO, M. E. A.; CERVI, A. C. & WISNIEWSKI JR. A. **Composição do óleo essencial de *Sinningia aggregata*.** Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 15, n. 4, p. 331-333, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000400013>

STEFFANI, E. **Modelagem Matemática do Processo de Extração Supercrítica de Óleo Essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *linaloolifera* Fujita) Utilizando CO₂.** 2003. 59 f. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Santa Catarina, 2010.

STEFFEN, R. B. **Óleo essencial de eucalipto como bioestimulador da micorrização e do estabelecimento de mudas de eucalipto e sibipiruna em solo contaminado com cobre.** 2010. 229 f. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. Santa Maria, 2010.

SURBURG, H. & PANTEN, J. **Common fragrance and flavor materials preparation, properties.** 5th ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag,. 318 p, 2006.
<https://doi.org/10.1002/3527608214>

TOLEDO, P. F.; FERREIRA, T. P.; BASTOS, I. M. A. S.; REZENDE, S. M.; JUMBO, L. O. V.; DIDONET, J.; ANDRADE, B. S.; MELO, T. S.; SMAGGHE, G.; OLIVEIRA, E. E. & AGUIAR, R. W. **Essential oil from *Negramina (Siparuna guianensis)* plants controls aphids without impairing survival and predatory abilities of non-target ladybeetles.** Environmental Pollution, 255, 113153, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113153>

TURLINGS, T. C. J.; TUMLINSON, J. H. & LEWIS, W. J. **Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps.** Science.250:1251–1253, 1990.
<https://doi.org/10.1126/science.250.4985.1251>

TURLINGS, T. C. J. & WÄCKERS, F. **Recruitment of predators and parasitoids by herbivore-injured plants**, pp. 21–75. In: Cardé, R. T. and Millar, J. G. (eds.), Advances in Insect Chemical Ecology. Cambridge University Press, Cambridge, 2004.
<https://doi.org/10.1017/CBO9780511542664.003>

VIEGAS JÚNIOR, C. & BOLZANI, V. S. **Os produtos naturais e a química medicinal moderna.** Química Nova, São Paulo. v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>

VITTI, A. M. S. & BRITO, O. J. **Óleo essencial de eucalipto.** Piracicaba: ESALQ 2003. 26 p. (Documentos Florestais).

WATANABE, H.; YANO, E.; HIGASHIDA, K.; HASEGAWA, S.; TAKABAYASHI, J. & OZAWA, R. **An attractant of the aphidophagous gall midge *Aphidoletes aphidimyza* from**

honeydew of *Aphis gossypii*. Journal of chemical ecology, 42(2), 149-155, 2016.
<https://doi.org/10.1007/s10886-016-0666-2>

WINK, M. Functions of Plant Secondary Metabolites and Their Exploitation in Biotechnology. Sheffield Academic Press: Sheffield, UK, 1999.

YU, J. Q.; LEI, J. C.; ZHANG, X. Q.; YU, H. D.; TIAN, D. Z.; LIAO, Z. X. & ZOU, G. L. **Anticancer, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Lycopus lucidus* Turcz. var. *hirtus* Regel.** Food Chemistry, 126(4), 1593-1598, 2011.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.027>

ZHANG, J.; AN, M.; WU, H.; STANTON, R. & LEMERLE D. **Chemistry and bioactivity of Eucalyptus essential oils.** Allelopathy J. 25: 313-330, 2010.

ZHOU, H.; TAO, N.; & JIA, L. **Antifungal activity of citral, octanal and α -terpineol against *Geotrichum citri-aurantii*.** Food Control, 37, 277-283, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.057>

ZHU, J.; COSSÉ, A. A.; OBRYCKI, J. J.; BOO, K. S. & BAKER, T. C. **Olfactory reactions of the twelve-spotted lady beetle, *Coleomegilla maculata* and the green lacewing, *Chrysoperla carnea* to semiochemicals released from their prey and host plant: electroantennogram and behavioral responses.** Journal of Chemical Ecology, 25(5), 1163-1177, 1999. <https://doi.org/10.1023/A:1020846212465>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados nesta pesquisa contribuem para o conhecimento das interações planta - inseto mediadas por compostos orgânicos voláteis. O estudo contribuiu principalmente para a compreensão de que os insetos predadores respondem aos voláteis emitidos pelas plantas sem a participação de herbívoros nos experimentos.

Outros trabalhos já haviam demonstrado a ocorrência de variação entre os voláteis emitidos por folhas novas e maduras e sabia-se que esta variação impacta nas interações entre plantas, insetos herbívoros e seus inimigos naturais. Aqui foi realizada a verificação da influência dos voláteis emitidos pelas folhas jovens e maduras, íntegras e com injúria do eucalipto na escolha do inseto crisopídeo predador. Foi utilizado o sistema de olfatômetro em “Y” que se mostrou adequado para os testes e não apresentou viés ou mistura entre os odores em qualquer dos lados. Os resultados deste estudo evidenciaram preferência das larvas do inseto predador por odores emitidos por folhas novas com injúria simulada.

A fim de compreender as escolhas efetuadas pelo crisopídeo, também foi verificada a composição do óleo essencial de folhas jovens e maduras, íntegras e com injúria do eucalipto para identificação dos compostos e suas concentrações. Os óleos essenciais de plantas são ferramentas interessantes no processo de manejo de insetos pragas, como atrativos ou repelentes, e geralmente consistem em misturas de numerosas moléculas, cuja base fisiológica para sua ação ainda não está totalmente esclarecida.

O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação com posterior identificação dos compostos através do Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas - CG-MS. Neste trabalho foi possível identificar quantidade superior de compostos do que outros estudos, contribuindo para a maior compreensão dos óleos essenciais desta variedade de eucalipto.

Os compostos com maior concentração encontrados em todas as folhas foram Eucaliptol, α -Terpineol e α -Terpinyl acetate. As folhas novas com injúria apresentaram maior concentração dos compostos Aromadendrene e Isobornyl isobutanoate<5-hydroxy->. Compostos como Eucaliptol, α -Terpineol e Aromadendrene possuem conhecida ação contra grupos de insetos, enquanto α -Terpinyl acetate pode ser utilizado isoladamente como atrativo de insetos lepidópteros, e repelente quando atua em conjunto com Eucaliptol.

A concentração dos compostos após a simulação da herbivoria e os resultados dos ensaios de olfatometria, não permitiram inferir sobre a ação isolada de um composto sobre a repelência ou atração. Tendo em vista a preferência das larvas de *C. externa* pelas folhas

novas com injúria, sugere-se a realização de estudos para identificar a ação dos compostos discutidos neste estudo, de forma isolada e em combinações controladas entre si, a fim de identificar a ação de efeitos sinérgicos e antagônicos.

A verificação de que o crisopídeo responde aos voláteis emitidos pelo eucalipto sem a interferência de herbívoros, com preferência aos voláteis de folhas novas, e a identificação de compostos do óleo essencial de *E. urograndis*, são os principais resultados deste trabalho. Estes contribuíram para avaliação do potencial de uso das florestas de *E. urograndis* como mantenedoras naturais de populações do inseto predador *C. externa*. Estudos adicionais do óleo essencial para identificação de voláteis atrativos ao crisopídeo podem aumentar os serviços ambientais ofertados por estas florestas a fim de contribuir para a redução na aplicação de agrotóxicos nos agroecossistemas.

APÊNDICE A - Tabela da identificação dos compostos na folha nova sem injúria de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144.

(continua)

Item	Tempo de retenção (min)	Composto	IA Literatura	IA Calculado	SI	Biblioteca
1	8,8	Eucalyptol	1026	1026	97	Nist08
2	10,3	Linalool oxide <cis-> (furanoid)	1067	1061	94	Shim2205
3	10,9	Linalool oxide <trans-> (furanoid)	1084	1076	91	Wiley229
4	11,3	Linalool	1095	1085	90	Shim2205
5	11,6	Não identificado	-	-	-	-
6	11,9	Fenchol <endo->	1114	1100	90	Shim2205
7	12,4	Campholenal < α ->	1122	1114	94	Shim2205
8	14,0	Borneol	1165	1157	97	Wiley229
9	14,6	Terpinen-4-ol	1174	1173	92	Wiley229
10	15,0	p-Cymen-8-ol	1179	1184	90	Wiley229
11	15,2	α -Terpineol	1186	1190	97	Wiley229
12	15,9	Verbenone	1204	1206	92	Wiley229
13	16,5	2-hydroxy-1,8-cineole	1227	1217	93	Nist08
14	17,5	Neral	1235	1235	90	Wiley229
		Carvone	1239	1235	91	Wiley229
15	18,0	Geraniol	1249	1245	80	Wiley139
16	18,7	Geranial	1264	1257	96	Wiley229
17	19,4	Não identificado	-	-	-	-
18	20,3	Não identificado	-	-	-	-
19	21,1	Verbenyl acetate-trans	1291	1301	79	Shim2205
20	21,8	exo-2-Hydroxy-cineole acetate	1342	1323	87	Nist08

APÊNDICE A - Tabela da identificação dos compostos na folha nova sem injúria de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144.

(conclusão)

Item	Tempo de retenção (min)	Composto	IA Literatura	IA Calculado	SI	Biblioteca
21	22,3	α -Terpinyl acetate	1346	1338	93	Nist08
22	22,8	Não identificado	-	-	-	-
23	23,3	alpha.-Copaene	1374	1367	90	Willey229
24	23,7	Geranyl acetate	1379	1367	90	Wiley229
25	24,6	Não identificado	-	-	-	-
26	25,6	Carvone hydrate	1422	1429	94	Shim2205
27	25,8	Não identificado	-	-	-	-
28	26,0	Aromadendrene	1439	1440	95	Wiley229
29	26,6	Não identificado	-	-	-	-
30	26,9	Não identificado	-	-	-	-
31	28,2	Não identificado	-	-	-	-
32	29,2	Geranyl isobutyrate	1514	1518	95	Willey 139
33	29,8	Não identificado	-	-	-	-
34	30,5	Flavesone	1545	1548	82	Shim2205
35	31,4	8-acetoxy-Carvotanacetone	1564	1569	86	Nist08
36	32,2	Spathulenol	1577	1587	90	Wiley229
		Caryophyllene oxide	1582		87	Wiley229
		Globulol	1590		75	Wiley229
37	32,5	Viridiflorol	1592	1594	91	Willey229
38	32,9	Não identificado	-	-	-	-
39	33,1	Humulene epoxide II	1608	1609	86	Shim2205
40	33,5	Leptospermone<iso->	1621	1619	85	Shim2205
41	33,8	Não identificado	-	-	-	-
42	34,1	Isobornyl isobutanoate<5- hydroxy->		1635	83	Shim2205

APÊNDICE B - Tabela da identificação dos compostos na folha madura sem injúria de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144.

(continua)

Item	Tempo de retenção (min)	Composto	IA Literatura	IA Calculado	SI	Biblioteca
1	8,8	Eucalyptol	1026	1026	97	Nist08
2	10,3	Linalool oxide <cis-> (furanoid)	1067	1062	90	Nist08
3	10,9	Linalool oxide <trans-> (furanoid)	1084	1076	93	Wiley229
4	11,4	Linalool	1095	1088	94	Wiley139
5	11,6	Não identificado	-	-	-	-
6	11,9	Fenchol<endo->	1114	1100	94	Shim2205
7	12,4	Campholenal<alpha->	1122	1114	94	Shim2205
8	14,1	Borneol	1165	1160	97	Wiley229
9	14,6	Terpinen-4-ol	1174	1173	78	Nist08
10	15,0	p-Cymen-8-ol	1179	1184	90	Nist08
11	15,3	α -Terpineol	1186	1192	95	Wiley229
12	15,9	Verbenone	1204	1206	91	Nist08
13	16,6	2-hydroxy-1,8-cineole	1227	1219	93	Nist08
14	17,4	Neral	1235	1233	85	Nist08
		Carvone	1239	1233	85	Nist08
15	18,1	Geraniol	1249	1246	80	Nist08
16	18,7	Geranial	1264	1257	97	Wiley229
17	19,4	Não identificado	-	-	-	-
18	20,3	Não identificado	-	-	-	-
19	21,1	Verbenyl acetate trans	1291	1301	80	Shim2205
20	21,8	exo-2-Hydroxycineole acetate	1342	1323	90	Nist08
21	22,3	α -Terpinyl acetate	1346	1338	94	Shim2205
22	22,9	Não identificado	-	-	-	-
23	23,4	alpha-copaene	1374	1370	86	Wiley229

APÊNDICE B - Tabela da identificação dos compostos na folha madura sem injúria de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144.

(conclusão)

Item	Tempo de retenção (min)	Composto	IA Literatura	IA Calculado	SI	Biblioteca
24	23,7	Gernyl acetate	1379	1379	90	Wiley229
25	24,6	Não identificado	-	-	-	-
26	25,7	Carvone hydrate	1422	1432	93	Shim2205
27	25,9	Não identificado	-	-	-	-
28	26,1	Aromadendrene	1439	1442	94	Wiley229
29	26,6	Não identificado	-	-	-	-
30	27,0	Não identificado	-	-	-	-
31	28,2	Não identificado	-	-	-	-
32	29,3	Geranyl isobutyrate	1514	1521	93	Shim2205
33	29,8	Não identificado	-	-	-	-
34	30,5	Flavesone	1545	1578	81	Shim2205
35	31,5	8-acetoxy- Carvotanacetone	1564	1571	86	Shim2205
36	32,2	spathulenol	1577	1587	91	Nist08
		Caryophyllene oxide	1582		82	Wiley229
		Globulol	1590		81	Wiley229
37	32,5	Viridiflorol	1592	1594	92	Wiley229
38	32,9	Não identificado	-	-	-	-
39	33,1	Humulene epoxide II	1608	1609	83	Shim2205
40	33,6	Leptospermone<iso->	1621	1622	89	Shim2205
41	33,9	Não identificado	-	-	-	-
		Isobornyl				
42	34,1	isobutanoate<5- hydroxy->		1635	83	Shim2205

APÊNDICE C - Tabela da identificação dos compostos na folha nova com injúria de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144.

(continua)

Item	Tempo de retenção (min)	Composto	IA Literatura	IA Calculado	SI	Biblioteca
1	8,7	Eucalyptol	1026	1024	97	Wiley229
2	10,3	Linalool oxide <cis-> (furanoid)	1067	1062	91	Wiley229
3	10,9	Linalool oxide <trans-> (furanoid)	1084	1076	90	Wiley229
4	11,3	Linalool	1095	1086	90	Shim225
5	11,5	Não identificado	-	-	-	-
6	11,9	Fenchol<endo->	1114	1100	92	Shim225
7	12,3	Campholenal<alpha->	1122	1111	80	Shim225
8	14,0	Borneol	1165	1157	92	Shim225
9	14,6	Terpinen-4-ol	1174	1173	90	Shim225
10	15,0	Cymen-8-ol<para->	1179	1184	90	Wiley229
11	15,3	α -Terpineol	1186	1192	95	Wiley229
12	15,8	Não identificado	-	-	-	-
13	16,5	2-hydroxy-1,8-cineole	1227	1217	94	Nist08
14	17,4	Neral	1235	1233	91	Wiley229
		Carvone	1239	1233	80	Wiley229
15	18,0	Geraniol	1249	1245	84	Wiley229
16	18,7	Geranial	1264	1257	96	Wiley229
17	19,4	Não identificado	-	-	-	-
18	20,3	Não identificado	-	-	-	-
19	21,1	Verbenyl acetate - trans	1291	1301	74	Nist08
20	21,8	exo-2-Hydroxycineole acetate	1342	1323	91	Nist08
21	22,3	α -Terpinyl acetate	1346	1337	92	Wiley229
22	22,8	Não identificado	-	-	-	-

APÊNDICE C - Tabela da identificação dos compostos na folha nova com injúria de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144.

(conclusão)

Item	Tempo de retenção (min)	Composto	IA Literatura	IA Calculado	SI	Biblioteca
23	23,3	alpha-copaene	1374	1367	87	Willey229
24	23,7	Geranyl acetate	1359	1379	93	Wiley229
25	24,6	Não identificado	-	-	-	-
26	25,7	Carvone hydrate	1422	1432	93	Shim225
27	25,8	Não identificado	-	-	-	-
28	26,1	Aromadendrene	1439	1442	95	Wiley229
29	26,6	Não identificado	-	-	-	-
30	27,0	Não identificado	-	-	-	-
31	28,2	Não identificado	-	-	-	-
32	29,2	Geranyl isobutyrate	1514	1518	93	Willey139
33	29,8	Não identificado	-	-	-	-
34	30,5	Flavesone	1545	1548	81	Shim225
35	31,5	8-acetoxy- Carvotanacetone	1564	1571	86	Nist08
36	32,2	spathulenol	1577	1587	85	Wiley229
		Caryophyllene oxide	1582		74	Wiley229
		Globulol	1590		83	Wiley229
37	32,5	Viridiflorol	1592	1594	90	Shim2205
38	32,9	Não identificado	-	-	-	-
39	33,1	Humulene epoxide II	1608	1609	85	Shim2205
40	33,5	Leptospermone<iso->	1621	1619	90	Shim2205
41	33,8	Não identificado	-	-	-	-
42	34,2	Isobornyl isobutanoate<5- hydroxy->	1656	1637	83	Shim2205

APÊNDICE D - Tabela da identificação dos compostos na folha madura com injúria de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144.

(continua)

Item	Tempo de retenção (min)	Composto	IA Literatura	IA Calculado	SI	Biblioteca
1	8,7	Eucalyptol	1026	1024	97	Wiley229
2	10,3	Linalool oxide <cis-> (furanoid)	1067	1062	92	Wiley229
3	10,9	Linalool oxide <trans-> (furanoid)	1084	1076	93	Wiley229
4	11,3	Linalool	1095	1086	94	Wiley229
5	11,5	Não identificado	-	-	-	-
6	11,9	Fenchol<endo->	1114	1100	95	Shim2205
7	12,3	Campholenal<alpha->	1122	1111	94	Shim2205
8	14,1	Borneol	1165	1160	95	Wiley229
9	14,6	Terpinen-4-ol	1174	1173	85	Nist08
10	15,0	p-Cymen-8-ol	1179	1184	88	Nist08
11	15,3	α -Terpineol	1186	1192	95	Wiley229
12	15,9	Não identificado	-	-	-	-
13	16,5	2-hydroxy-1,8-cineole	1227	1217	93	Nist08
14	17,4	neral	1235	1233	90	Nist08
		Carvone	1239	1233	90	Nist08
15	18,0	Geraniol	1249	1245	88	Nist08
16	18,7	Geranial	1264	1257	97	Wiley229
17	19,4	Não identificado	-	-	-	-
18	20,3	Não identificado	-	-	-	-
19	21,0	Verbenyl	1291	1300	80	Shim2205
		acetate<trans->				
20	21,8	exo-2-Hydroxycineole	1342	1323	91	Nist08
		acetate				

APÊNDICE D - Tabela da identificação dos compostos na folha madura com injúria de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) clone I144.

(conclusão)

Item	Tempo de retenção (min)	Composto	IA Literatura	IA Calculado	SI	Biblioteca
21	22,3	α -Terpinyl acetate	1346	1338	93	Wiley229
22	22,8	Não identificado	-	-	-	-
23	23,3	alpha-copaene	1374	1367	80	Wiley229
24	23,7	Geranyl acetate	1379	1379	90	Wiley139
25	24,6	Não identificado	-	-	-	-
26	25,7	Carvone hydrate	1422	1432	93	Shim2205
27	25,9	Não identificado	-	-	-	-
28	26,0	Aromadendrene	1439	1440	93	Wiley229
29	26,6	Não identificado	-	-	-	-
30	27,0	Não identificado	-	-	-	-
31	28,2	Não identificado	-	-	-	-
32	29,2	Geranyl isobutyrate	1514	1518	94	Wiley229
33	29,8	Não identificado	-	-	-	-
34	30,5	Flavesone	1545	1548	84	Shim2205
35	31,5	8-acetoxy- Carvotanacetone	1564	1571	86	Shim2205
36	32,2	spathulenol	1577	1587	86	Wiley229
-	-	Caryophyllene oxide	1582	-	80	Wiley229
-	-	Globulol	1590	-	86	Wiley139
37	32,5	Viridiflorol	1592	1594	91	Wiley229
38	32,9	Não identificado	-	-	-	-
39	33,1	Humulene epoxide II	1608	1609	85	Nist08
40	33,5	Leptospermone<iso->	1621	1619	82	Shim2205
41	33,9	Não identificado	-	-	-	-
42	34,2	Isobornyl isobuta- noate<5-hydroxy->		1637	84	Shim2205