

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOSSISTEMAS

LUMA DALMOLIN STENGER

**TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *Thaumastocoris*  
*peregrinus*, *Cleruchoides noackae* E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM  
*Eucalyptus benthamii***

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS  
2017

LUMA DALMOLIN STENGER

**TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *Thaumastocoris*  
*peregrinus*, *Cleruchoides noackae* E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM  
*Eucalyptus benthamii***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agroecossistemas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agroecossistemas.

Orientadora: Prof. Dra. Michele Potrich  
Co-orientadores: Prof. Dr. Américo Wagner Júnior e Dr. Leonardo Rodrigues Barbosa

DOIS VIZINHOS  
2017

S799t Stenger, Luma Dalmolin  
Toxicidade dos óleos essenciais sobre *Thaumastocoris peregrinus*, *Cleruchoides noackae* e na indução de resistência em *Eucalyptus benthamii* / Luma Dalmolin Stenger – Dois Vizinhos, 2017  
62f.:il

Orientador: Dra. Michele Potrich  
Coorientador: Dr. Américo Wagner Júnior  
Coorientador: Dr. Leonardo Rodrigues Barbosa  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas, Dois Vizinhos, 2017.  
Bibliografia p. 48-60

1. Eucalipto 2. Sistemas de controle biológico 3. Essências e óleos essenciais 4. Teste de toxicidade I. Potrich, Michele, orient. II. Wagner Júnior, Américo, coorient. III. Barbosa, Leonardo Rodrigues, coorient. IV. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos V. Título

CDD: 632.96



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Câmpus Dois Vizinhos  
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
**Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas**



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**Título da Dissertação nº 004**

**“Toxicidade de óleos essenciais a *Thaumastocoris peregrinus*, seletividade a *Cleruchoides noackae* e indução de resistência em *Eucalyptus benthamii*”**

**Luma Dalmolin Stenger**

Dissertação apresentada às treze horas e trinta minutos do dia vinte e oito de julho de dois mil e dezessete, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGROECOSSISTEMAS, Linha de Pesquisa – Manejo e Conservação de Agroecossistemas, Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas (Área de Concentração: Agroecossistemas), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho .....

Banca examinadora:

\_\_\_\_\_  
**Michele Potrich**  
UTFPR-DV

\_\_\_\_\_  
**Juliano Zanela**  
UTFPR-DV

\_\_\_\_\_  
**Adeney de Freitas Bueno**  
EMBRAPA-Soja

\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Eleandro José Brun**  
Coordenador do PPGSIS

\*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas.

A minha querida, amada e inesquecível mãe  
Rita Dalmolin que guia cada passo meu.

*In memoriam.*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Mario Stenger por acreditar em mim, pelo apoio em todos os momentos da minha vida, por batalhar para me dar condições para que meus sonhos pudessem se tornar realidade. A minha família Dalmolin, família Stenger e amigos que mesmo distante mandaram pensamentos e energias positivas para que este trabalho pudesse ser concluído com êxito e incentivaram-me na constante busca pelo conhecimento.

Ao meu querido namorado Felipe Speltz, pela compreensão e por ser um bom ouvinte e conselheiro nos momentos mais cruciais, por estar sempre ao meu lado mesmo distante, a você todo meu amor.

A Professora Dra. Michele Potrich a quem sempre com alma e paciência me aceitou como orientada, mostrou que acreditava em mim como profissional e como pessoa. O seu estímulo constante e testemunho de seriedade, permitiram-me concretizar este estudo, auxiliando-me com sua sabedoria de forma imprescindível para a elaboração deste trabalho.

A EMBRAPA Florestas, em especial ao meu co-orientador e pesquisador Dr. Leonardo Barbosa pela oportunidade de realizar parte do projeto no Laboratório de Entomologia Florestal. Além do tempo e atenção a mim dedicados, pelos conhecimentos passados, pelas palavras de otimismo, motivação e pelas caronas. As estagiárias, Estela Brenner, Elaine Caroline e ao Mestrando Ângelo Peruffo Rodrigues, pelo apoio prestado e aprendizado que me proporcionaram.

Ao co-orientador Dr. Américo Wagner Júnior pelo apoio e contribuições ao trabalho, sempre com muito profissionalismo e entusiasmo, abrindo as portas de seu laboratório, para que fosse possível realizar parte do experimento. Ao Juliano Zanela pela ajuda pessoal e técnica nos trabalhos de Laboratório de Fisiologia vegetal da UTFPR-DV.

Ao professor Sérgio Mazaro pela atenção e paciência com que sempre me recebeu e auxiliou, sanando dúvidas em relação às análises bioquímicas, mesmo nos momentos em que se encontrava muito ocupado em seus afazeres e sempre que necessário emprestou reagentes e equipamentos de seu laboratório.

Agradeço a cada um de meus colegas do Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Igor Gallo, Gabriela Osowski, Leonardo Tozzeti Alves, Willian Fonseca, Adriana Ricardo que ajudaram na montagem e avaliação dos experimentos, por dias e horas, além do apoio emocional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq -pela bolsa concedida e pelo apoio financeiro;

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas pelos ensinamentos. Aos meus colegas de mestrado pelos momentos de cumplicidade e pelo convívio, quase diário, em especial à Mycheli Preuss da Cruz pela parceria em todo momento, e por ceder varias vezes sua casa para dormir.

Enfim, a todas as pessoas, que de uma forma ou outra colaboraram para a conclusão deste mestrado, meu sincero obrigado!

## RESUMO

STENGER, Luma, Dalmolin. **TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *Thaumastocoris peregrinus*, *Cleruchoides noackae* E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM *Eucalyptus benthamii***. 2017. 62 f. Dissertação, (Mestrado em Agroecossistemas) – Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

As plantações de eucalipto no Brasil vêm sofrendo ataque de insetos exóticos, causando perdas significativas nesta cultura. *Thaumastocoris peregrinus* alimenta-se da seiva das folhas do eucalipto, o que promove redução na taxa fotossintética, desfolha e, em alguns casos, a morte da planta. Contudo, métodos de controle alternativo estão sendo estudados para reduzir e/ou eliminar os problemas associado a esse inseto e ao uso de produtos fitossanitários sintéticos. Deste modo, o presente trabalho objetivou avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia*, *Casearia sylvestris* e *Eugenia uniflora* sobre *T. peregrinus*, a seletividade de *E. uniflora* ao parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* e o potencial destes óleos como indutores de mecanismo de defesa em *Eucalyptus benthamii*. Para isso, avaliou-se a mortalidade de *T. peregrinus*, após entrar em contato com os óleos essenciais (1,0%), selecionando-se o óleo de *E. uniflora* para ser avaliado em diferentes concentrações sobre adultos, ninfas de 3º ínstar e ovos de *T. peregrinus*, e sobre o parasitoide de ovos *C. noackae*. A seletividade sobre este parasitoide foi analisada no pré-parasitismo, pós-parasitismo (1 dia) e pós-parasitismo (7 dias). Avaliando a porcentagem de ovos parasitados por *C. noackae*, porcentagem de *C. noackae* emergidos, razão sexual de *C. noackae* e porcentagem de ninfas de *T. peregrinus* eclodidas. Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia em fase gasosa. O teste de indução de resistência teve objetivo de avaliar os mesmos óleos essenciais, como indutores de mecanismos de defesa em *E. benthamii*. Foram realizados dois bioensaios, 1) pulverizou-se os óleos essenciais e depois de 30 dias realizaram-se as análises bioquímicas dos tecidos foliares, avaliando-se açúcares totais, proteínas, peroxidases, fenilalanina amônia-liase (FAL) e fenóis. 2) sete dias após a primeira análise pulverizou-se novamente os óleos essenciais e depois de 3 dias avaliaram-se os parâmetros citados anteriormente. No teste de toxicidade verificou-se a mortalidade de *T. peregrinus* (100%), após contato com óleo essencial de *E. uniflora* (1,0%), e este, na concentração de 0,75% apresentou potencial inseticida sobre adultos, ninfas de 3º ínstar e ovos de *T. peregrinus*. Este óleo foi seletivo a *C. noackae* quando aplicado pós-parasitismo (1 dia). Quando aplicado pré-parasitismo e pós-parasitismo (7 dias) afetou os parâmetros biológicos deste parasitoide. Os compostos majoritários encontrados no óleo essencial de *M. alternifolia* foram, 1,8-cineol (72,31%) a-terpineol (8,55%), em *C. sylvestris* foram g-muroleno (19,55%), a-zingibereno (15,24%) e s-amorfenno (13,17%) e em *E. uniflora* calamen-10-ona (20,20%), silfiperferol-6-em-5-ona (10,06%), germacrona (6,61%). Os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* não promoveram aumento significativo dos níveis de açúcares totais, proteínas, peroxidase, FAL e fenóis ao serem analisados aos trinta dias após a pulverização. Os mesmos óleos pulverizados e analisados após três dias possuem potencial como indutores de mecanismos de defesa em mudas de *E. benthamii*.

**Palavras-chave:** Eucalipto. Controle alternativo. Percevejo-bronzeado.

## ABSTRACT

STENGER, Luma, Dalmolin. **TOXICITY OF ESSENTIAL OILS ON *Thaumastocoris peregrinus*, *Cleruchoides noackae* AND THE INDUCTION OF RESISTANCE IN *Eucalyptus benthamii***. 2017. 62 f. Dissertation, (MSc in Agroecosystems) - Graduate Program in Agroecosystems. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

Eucalyptus plantations in Brazil have been attacked by exotic insects, causing significant losses in this crop. *Thaumastocoris peregrinus* feeds on the sap of the eucalypt leaves, which promotes a reduction in the photosynthetic rate, defoliation and, in some cases, the death of the plant. However, alternative control methods are being studied to reduce and/or eliminate the problems associated with this insect and the use of synthetic phytosanitary products. The objective of this work was to evaluate the toxicity of the essential oils of *Melaleuca alternifolia*, *Casearia sylvestris* and *Eugenia uniflora* on *T. peregrinus*, the selectivity of *E. uniflora* to the parasitoid eggs of *Cleruchoides noackae* and the potential of these oils as inducers of defense mechanism in *Eucalyptus benthamii*. For this purpose, the mortality of *T. peregrinus* was evaluated after contact with the essential oils (1,0%), and the oil of *E. uniflora* was selected to be evaluated in different concentrations on adults, 3<sup>o</sup> instar nymphs And eggs of *T. peregrinus*, and on the parasitoid of *C. noackae* eggs. The selectivity on this parasitoid was analyzed in pre-parasitism, post-parasitism (1 day) and post-parasitism (7 days). Evaluating the percentage of eggs parasitized by *C. noackae*, percentage of *C. noackae* emerged, sexual ratio of *C. noackae* and percentage of *T. peregrinus* nymphs hatched. The essential oils were analyzed by gas chromatography. The resistance induction test had the objective of evaluating the same essential oils as inducers of defense mechanisms in *E. benthamii*. Two bioassays were performed, 1) the essential oils were pulverized and after 30 days the biochemical analyzes of the foliar tissues were performed, evaluating total sugars, proteins, peroxidases, phenylalanine ammonia-lyase (FAL) and phenols. 2) seven days after the first analysis the essential oils were again sprayed and after 3 days the parameters mentioned above were evaluated. In the toxicity test, mortality of *T. peregrinus* (100%), after contact with *E. uniflora* essential oil (1,0%) was verified, and at 0,75% concentration showed insecticidal potential on adults, 3<sup>o</sup> instar nymphs and *T. peregrinus* eggs. This oil was selective to *C. noackae* when applied after parasitism (1 day). When applied pre-parasitism and post-parasitism (7 days) affected the biological parameters of this parasitoid. The major compounds found in the essential oil of *M. alternifolia* were, 1,8-cineol (72.31%) a-terpineol (8.55%), in *C. sylvestris* were g-murolene (19.55%), (15.24%) and s-amorphene (13.17%) and in *E. uniflora* calamen-10-one (20.20%), silfiperferol-6-em-5-one (10.06%), , Germacrona (6.61%). The essential oils of *M. alternifolia*, *C. sylvestris* and *E. uniflora* did not promote a significant increase in the levels of total sugars, proteins, peroxidase, FAL and phenols when analyzed within 30 days after spraying. The same oils sprayed and analyzed after three days have potential as inducers of defense mechanisms in *E. benthamii* seedlings.

**Keywords:** Eucalipto. Alternate control. Bronze-bug.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Variáveis dendrométricas: Altura total (cm), Diâmetro a altura do peito (cm) e número de folhas das mudas de *Eucalyptus benthamii*.....26
- Tabela 2: Porcentagem de mortalidade ( $\pm$  EP) e mortalidade acumulada ( $\pm$  EP) de adultos de *Thaumastocoris peregrinus* em contato com folhas de *Eucalyptus dunnii* imersas em óleos essenciais *Melaleuca alternifolia*, *Casearia sylvestris* e *Eugenia uniflora* (concentração 1,0%) à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $70 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.....34
- Tabela 3: Porcentagem de mortalidade ( $\pm$  EP) e mortalidade acumulada ( $\pm$  EP) de adultos e ninfas de 3º ínstar de *Thaumastocoris peregrinus* em contato com folhas de *Eucalyptus dunnii* imersas em óleo essencial *Eugenia uniflora* nas concentrações 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,0%, 1,25% à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $70 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.....35
- Tabela 4: Porcentagem de ninfas de *Thaumastocoris peregrinus* eclodidas em intervalo de tempo ( $\pm$  EP), porcentagem acumulada de ninfas de *Thaumastocoris peregrinus* eclodidas ( $\pm$  EP), porcentagem de ovos sem eclosão ( $\pm$  EP) e porcentagem de ovos com *Thaumastocoris peregrinus* retidos ( $\pm$  EP) quando tratados com óleo essencial de *Eugenia uniflora* nas concentrações 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,0%, 1,25% à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $70 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.....36
- Tabela 5: Características biológicas e de parasitismo de *Cleruchoides noackae* em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* tratados com óleo essencial de *Eugenia uniflora* na concentração 0,75%, à temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $40 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.....37

Tabela 6: Componente dos óleos essenciais em análise cromatografia líquida (HLPC).....40

Tabela 7: Componente dos óleos essenciais em análise cromatografia líquida (HLPC).....41

Tabela 8: Componente dos óleos essenciais em análise cromatografia líquida (HLPC).....42

Tabela 9: Concentração de açúcares totais ( $\text{mg.g tecido}^{-1}$ ), proteínas ( $\text{mg.g tecido}^{-1}$ ), peroxidase ( $\text{mg.g tecido}^{-1}$ ), FAL ( $\text{UAbs.}\mu\text{g prot.mL}^{-1}$ ) compostos fenólicos ( $\text{mg.GAE.g}^{-1}$ ), em de mudas de *E. benthamii* pulverizadas com os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* e avaliadas depois de 30 dias.....43

Tabela 10: Concentração de açúcares totais ( $\text{mg.g tecido}^{-1}$ ), proteínas ( $\text{mg.g tecido}^{-1}$ ), peroxidase ( $\text{mg.g tecido}^{-1}$ ), FAL ( $\text{UAbs.}\mu\text{g prot.mL}^{-1}$ ) e compostos fenólicos ( $\text{mg.GAE.g}^{-1}$ ), em de mudas de *E. benthamii* pulverizadas com os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* e avaliadas depois de três dias.....44

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVO.....</b>	<b>15</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 Cultura do <i>Eucalyptus</i> sp. ....</b>	<b>16</b>
<b>3.2 <i>Thaumastocoris peregrinus</i> .....</b>	<b>17</b>
3.2.1 Histórico e Distribuição .....	17
3.2.2 Biologia.....	18
3.2.3 Danos ocasionados na cultura do Eucalipto .....	19
<b>3.3 Métodos de controle.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3.1 Parasitoide <i>Cleruchoides noackae</i>.....</b>	<b>21</b>
<b>3.3.2 Óleos essenciais .....</b>	<b>22</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
<b>4.1 Criação de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> .....</b>	<b>25</b>
<b>4.2 Criação de <i>Cleruchoides noackae</i> .....</b>	<b>26</b>
<b>4.3 Obtenção dos óleos essenciais .....</b>	<b>26</b>
4.3.1 Cromatografia.....	27
<b>4.4 Obtenção das mudas de <i>E. benthamii</i>.....</b>	<b>27</b>
<b>4.5 Toxicidade de óleos essenciais sobre <i>T. peregrinus</i> .....</b>	<b>28</b>
<b>4.6 Seletividade de <i>E. uniflora</i> a <i>C. noackae</i> .....</b>	<b>29</b>
4.6.1 Teste de confinamento–pré-parasitismo .....	29
4.6.2 Teste de confinamento–pós-parasitismo.....	30
<b>4.7 Indução de resistência em <i>E. benthamii</i> .....</b>	<b>31</b>
4.7.1 Açúcares Totais.....	31
4.7.2 Proteínas.....	32
4.7.3 Peroxidase.....	32
4.7.4 Fenilalanina amônia-liase (FAL) .....	33
4.7.5 Compostos Fenólicos .....	33
<b>4.8 Análise Estatística .....</b>	<b>34</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>5.1 Toxicidade de óleos essenciais sobre <i>T. peregrinus</i> .....</b>	<b>35</b>
<b>5.2 Seletividade do óleo essencial de <i>E. uniflora</i> a <i>C. noackae</i> .....</b>	<b>38</b>
<b>5.3 Cromatografia Gasosa.....</b>	<b>41</b>
<b>5.4 Indução de resistência em <i>E. benthamii</i> .....</b>	<b>44</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>49</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>51</b>
<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As florestas são fundamentais para a existência da vida, pois fornecem alimentos, são responsáveis pela regulação do clima e da quantidade de oxigênio e dióxido de carbono liberados na atmosfera, pela retenção das águas das chuvas e também pela proteção das fontes de água (MORRIS, 2012). A sociedade sempre necessitou de produtos de base florestal para sua sobrevivência, a qual era suprida quase que, exclusivamente, por meio das florestas nativas. O reflorestamento é um mecanismo importante, pois diminui a pressão sobre as florestas nativas, viabilizando a produção de madeira além de produtos não madeireiros (ARRAES et al., 2012; MUTEIA, 2014).

*Eucalyptus* é um gênero que pode ser introduzido em diversos sistemas de reflorestamento e nas últimas décadas a expansão desta cultura foi notável no Brasil e o setor florestal ganhou destaque na economia brasileira (ABRAF, 2013). Em 2014, a área plantada de eucalipto no país registrou um crescimento 1,8% em relação a 2013, o que totalizou 5,56 milhões de hectares da área de árvores plantadas no País.

Esta demanda crescente de produtos de origem florestal no qual tem aumentado a conversão de florestas nativas em florestas plantadas, especialmente, com o gênero *Eucalyptus*, vem favorecendo o surgimento de insetos-praga, em razão da redução da diversidade biológica, facilidade de adaptação de insetos às condições climáticas e rápida dispersão destes insetos-praga (HOLT; LEPAGE, 2000; SOLIMAN, 2010).

*Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero & Dellapé, 2006) (Hemiptera: Thaumastocoridae), conhecido como percevejo-bronzeado, tem se destacado devido a sua ampla distribuição populacional/geográfica e seu impacto negativo na produção do eucalipto (GARLET et al., 2012; LEITE; CERQUEIRA, 2013). Este inseto é de origem australiana, e se dispersou rapidamente por diversos estados brasileiros, com presença confirmada em São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Goiás (WILCKEN et al., 2010; BARBOSA et al., 2010; LORENCETTI, et al., 2012; SAVARIS et al., 2011; PEREIRA et al., 2013).

Os danos ocasionados por *T. peregrinus*, em eucalipto, são caracterizados pelo prateamento nas folhas, seguido do avermelhamento (bronzeamento) e, posteriormente, o secamento, o que causa desfolha (JACOBS; NESER, 2005; BOUVET; VACCARO, 2007) e até mesmo a morte de árvores. Esse dano é ocasionado devido ao hábito alimentar fitófago deste inseto, que perfura as folhas e ramos finos para sugar seiva (BUTTON, 2007;

WILCKEN et al., 2008; WILCKEN et al., 2010).

O controle deste inseto pode-se dar através do Inseticida sistêmico Imidacloprido e Capture 400 EC (NOACK et al., 2009; AGROFIT, 2017), controle biológico clássico com parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* (Lin & Huber, 2007) (Hymenoptera: Mymaridae (LIN et al., 2007), inimigos naturais como *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) e *Atopozelus opsimus* (Elkins, 1954) (Hemiptera: Reduviidae) (WILCKEN et al., 2012; BELTRAMIN, 2013). Além do controle por entomófagos, o controle de *T. peregrinus* por entomopatógenos com destaque aos fungos *Zoophthora radicans* (Brefeld), *Paecilomyces cateniannulatus* (Z.Q. Liang), *Beauveria bassiana* (Bals. Vuill.), *Metarhizium anisopliae* (Metsch) e *Fusarium proliferatum* (Matsushima) (SOLIMAN, 2010; MASCARIN et al., 2012; LAZO, 2012; LORENCETTI, 2013).

Outra opção está na utilização de óleos essenciais, pois possuem propriedades inseticidas, bactericidas, fungicidas, antisséptica e medicinais (CIMANGA et al., 2002; CANSIAN et al. 2010; KNAAK; FIUZA, 2010; ELAISSI, 2012; VALERIANO, 2012), e ainda podem ser utilizados como indutor de resistência, pois apresentam capacidade de induzir a produção de enzimas chaves envolvidas na síntese de lignina e fitoalexinas, como a peroxidase, a polifenoloxidase e compostos fenólicos, capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de resistência nas plantas (SMITH, 1996). Dessa forma, poder-se-ia utiliza-lo como estratégia para o controle de *T. peregrinus*

Nesse sentido, diante do potencial apresentado, destaca-se a importância em avaliar os óleos essenciais na ação como repelência, toxicidade, deterrente ou em afetar o desenvolvimento de *T. peregrinus*. Além disso, destaca-se também a necessidade de testar óleos essenciais sobre o parasitoide de ovos *C. noackae*, afim de, verificar efeitos negativos no desempenho e parâmetros biológicos no parasitoide, pois pode ser forma alternativa de controle para *T. peregrinus*.

Deste modo, o progresso na linha de conhecimento sobre a toxicidade dos óleos essenciais a *T. peregrinus*, torna-se essencial para auxiliar no controle desse inseto-praga, bem como, na redução de impactos econômicos e ambientais. Além, da necessidade de avaliar a seletividade dos óleos essenciais sobre o parasitoide *C. noackae*, de modo que venha favorecer a conservação deste inimigo natural e potencializar métodos de controle, para que os mesmos possam ser utilizados no mesmo cultivo. Também é importante avaliar os óleos essenciais como potenciais na indução de resistência, pois a utilização destes é método que apresenta potencial para o controle e manejo de insetos e doenças do eucalipto.

## 2 OBJETIVO

Avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche, Cheel), *Casearia sylvestris* (Swartz) e *Eugenia uniflora* (L.) sobre *T. peregrinus*, a seletividade de *E. uniflora* ao parasitoide de ovos *C. noackae* e o potencial destes óleos como indutores de resistência em *Eucalyptus benthamii* (Maiden et Cambage).

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Cultura do *Eucalyptus* sp.

O Eucalipto é uma espécie de ocorrência natural na Austrália e Oceania, cujo nome é a denominação comum das diversas espécies do gênero *Eucalyptus* e do gênero *Corymbia*, pertencente à família das Myrtaceae que compreende outros 130 gêneros, com aproximadamente 700 espécies descritas, sendo introduzida no Brasil, em 190 por Navarro de Andrade (HASSE, 2006; VITAL 2007; QUEIROZ; BARRICHELO, 2007).

Nas últimas décadas a expansão da cultura do eucalipto foi notável no Brasil e o setor florestal ganhou destaque na economia brasileira (ABRAF, 2013). Esse cenário é resultante, principalmente, de políticas públicas que incentivaram a produção florestal. No período entre 1965 a 1987 as plantações de eucalipto utilizaram o programa federal de incentivos fiscais (LIMA, 1996) e a partir dos anos 2000 passou a utilizar o Programa Nacional de Florestas (PNF) do Ministério do Meio Ambiente (Decreto nº 3.420/2000, Brasil, 2000) (GABRIEL et al., 2013).

Novos e importantes investimentos foram e estão sendo desenvolvidos em várias regiões, visando suprir a demanda interna e também com vista à exportação. Em 2014, a área plantada de eucalipto no país registrou um crescimento 1,8% em relação a 2013, o que totalizou 5,56 milhões de hectares da área de árvores plantadas no País, o que representa 71,9% do total, estando estes plantios localizados, principalmente, nos Estados de Minas Gerais (25,2%), São Paulo (17,6%) e Mato Grosso do Sul (14,5%) (IBÁ, 2015). Conseqüentemente, qualquer fator que afete o desenvolvimento da planta reduzindo sua produtividade ocasionará em impacto na economia florestal, sendo um destes fatores a ocorrência de insetos-praga.

A cultura do eucalipto pode ser atacada por diversos insetos nativos, entre eles, cupins dos gêneros *Syntermes* e *Cornitermes*, formigas do gênero *Atta* e *Acromyrmex*, lagartas-desfolhadoras *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), besouros-de-folha *Costalimaita ferruginea* (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Chrysomelidae) e coleobrocas *Achryson surinamum* (Linnaeus, 1767) *Mallodon spinibarbis* (Linnaeus, 1758), *Phoracantha semipuncta* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Cerambycidae) (GALLO et al., 2002).

Além dos problemas causados pelos insetos nativos, a introdução de insetos de espécies exóticas tem gerado perdas aos plantios com eucalipto no Brasil, entre as mais recentes estão *Glycaspis brimblecombei* (Moore, 1964) (Hemiptera: Aphalaridae) detectado em 2003 (WILCKEN et al., 2003), *Leptocybe invasa* (Fisher & La Salle, 2004) (Hymenoptera: Eulophidae) (WILCKEN et al., 2008) e *Thaumastocoris peregrinus*, ambos detectado em 2008 (WILCKEN et al., 2010).

Estes insetos tornam a produção das florestas de eucalipto seriamente ameaçada. Um dos fatores que facilitam a proliferação destas pragas são as extensas monoculturas predominantes neste sistema produtivo que por sua vez, possuem pouca diversidade de outras espécies de artrópodes que podem ser predadores desses insetos (EMBRAPA, 2010).

### **3.2 *Thaumastocoris peregrinus***

#### 3.2.1 Histórico e Distribuição

O gênero *Thaumastocoris* é de origem australiana, as cinco espécies deste gênero são encontradas na Austrália (*T. australicus*, *T. hackeri*, *T. petilus* e *T. macqueeni*) e África do Sul (*T. peregrinus*) (CARPINTERO; DELLAPÉ, 2006).

Na África do Sul, a ocorrência de *T. australicus* foi relatado em 2003, quando uma espécie feminina foi coletada em *Croton gratissimus* (Euphorbiaceae) (sangue de dragão) (JACOBS; NESER, 2005). Na Argentina, *T. australicus* foi detectado perto de Buenos Aires, em novembro de 2005 (NOACK; COVIELLA, 2006). No entanto, Carpintero e Dellapé (2006) mostraram que ambos os relatórios foram, na verdade *T. peregrinus*, corrigindo o trabalho anterior, e que ilustra que ambas as espécies eram morfologicamente semelhantes. Este inseto foi relatado também no Uruguai (MARTÍNEZ; BIANCHI, 2010) Chile (IDE et al., 2011), Nova Zelândia (SOPOW et al., 2012), Portugal (GARCIA et al., 2013) e México (QUIROZ et al., 2016).

No Brasil *T. peregrinus* foi observado pela primeira vez no Rio Grande do sul, em fevereiro de 2008, sobre clone híbrido de *Eucaliptus grandis* x *Eucaliptus urophylla*, conhecido como *urograndis* (WILCKEN et al., 2010; BARBOSA et al., 2010), sua presença também foi confirmada nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de

Janeiro, Mato Grosso do Sul (WILCKEN et al., 2010), Paraná (BARBOSA et al., 2010; LORENCETTI, et al., 2012), Santa Catarina (SAVARIS et al., 2011) e Goiás (PEREIRA et al., 2013).

### 3.2.2 Biologia

Trata-se de um inseto fitófago, com hábito alimentar sugador, que apresenta capacidade de geração de danos e rápida reprodução, o que facilita a colonização de novas áreas. É pequeno, com o corpo achatado e com aproximadamente 3 mm de comprimento, quando adulto (Figura 1). Em sua cabeça há a presença de placas mandibulares desenvolvidas, antenas com quatro segmentos, sendo os apicais mais escuros, têm olhos avermelhados e possui coloração castanho-amarelada e hábito gregário (SOLIMAN, 2010).

A fêmea pode ovipositar em média 2 ovos por dia, com longevidade de aproximadamente 30 dias que são colocados tanto no limbo foliar como nos ramos (Figura 2), estes são de cor preta, encontrados agrupados nas irregularidades das folhas, próximos à nervura central e em alguns casos próximas as extremidades, e nas deformidades do limbo foliar, em ramos e nas sementes de eucalipto, o que pode auxiliar na identificação de plantas infestadas (BUTTON, 2007).



Figura 1: *Thaumastocoris peregrinus*.  
Fonte: Stenger, 2017.

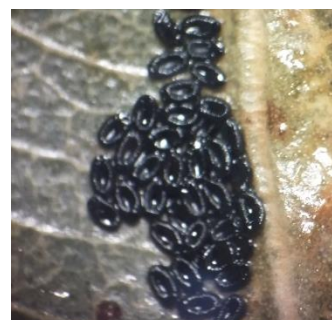


Figura 2: Ovos de *Thaumastocoris peregrinus*.  
Fonte: Stenger, 2017.

As ninfas de *T. peregrinus* são achatadas dorsoventralmente e apresentam tecas alares visíveis a partir do quarto instar, com crescimento expressivo para o quinto instar. Em

todos os estágios a coloração altera do marrom claro para mais escuro no fim do ciclo imaturo. Após a ecdise, a ninfa apresenta exoesqueleto branco, ficando com a coloração marrom após algumas horas. Sua fase ninfal dura aproximadamente 35 dias, podendo ter várias gerações ao longo do ano, quando o clima é favorável ao inseto (SOLIMAN, 2010).

### 3.2.3 Danos ocasionados na cultura do Eucalipto

Os sintomas das plantas atacadas por *T. peregrinus* são o prateamento das folhas (danos leves) que ao longo do tempo variam em tons de marrom e vermelho (danos severos) (Figura 3), conferindo um aspecto bronzeado às árvores atacadas. Isto ocorre devido ao hábito alimentar do percevejo, que perfura as folhas e ramos finos para sugar seiva, deixando-os cloróticos (BUTTON, 2007; WILCKEN et al 2010).

Ninfas e adultos atacam preferencialmente as folhas mais velhas, porém já foi diagnosticado o ataque em ponteiros de plantas adultas em São Manuel, SP e também em plantas jovens na região do Vale do Paraíba, SP (SOLIMAN, 2010). Estudos realizados por Barbosa et al. (2010), em Curitiba, PR, confirmam que as árvores atacadas apresentaram, além da copa bronzeada intensamente e início de desfolha, o prateamento das folhas e ramos mais baixos.



Figura 3: Danos ocasionados pelo *Thaumastocoris peregrinus*.  
Fonte: Stenger, 2017.

### 3.3 Métodos de controle

O controle de *T. peregrinus*, pode-se dar através do controle químico com a utilização do Inseticida sistêmico Imidacloprido, no qual é utilizado em arborização urbana na Austrália (NOACK et al., 2009). Porém, o respectivo inseticida é nocivo às abelhas e promove alterações comportamentais nestas (TOME, 2012; BOVI, 2013; CARRILLO et al. 2013). Em 2016, o inseticida Capture 400 EC, da empresa FMC Agricultural Solutions, foi apresentado como solução de rápido controle contra *T. peregrinus* e *L. invasa* no Brasil (AGROFIT, 2017).

No entanto, o uso de produtos fitossanitários sintéticos para o controle de insetos tem ocasionado, em alguns casos, a interrupção do controle biológico natural, contaminação da água, do ar, de alimentos, aumento de populações de insetos resistentes aos produtos, contaminação e mortalidade de abelhas e inimigos naturais. Com isso, houve aumento no interesse e no uso de métodos alternativos, entre os quais citam-se o uso de óleos essenciais de plantas e produtos naturais (DINIZ et al., 2008; KORBES et al., 2010; LONDRES, 2011).

O controle de *T. peregrinus* por entomopatógenos também foi descrito, com destaque aos fungos entomopatogênicos *Zoophthora radicans* (Brefeld), *Paecilomyces cateniannulatus* (Z.Q. Liang), *Beauveria bassiana* (Bals. Vuill.), *Metarhizium anisopliae* (Metsch) e *Fusarium proliferatum* (Matsushima) foram descritos sobre *T. peregrinus* em ocorrência em campo (SOLIMAN, 2010; MASCARIN et al., 2012; LAZO, 2012; LORENCETTI, 2013) em laboratório (SOLIMAN, 2010; LORENCETTI, 2013).

Entre estas opções, tem-se o controle biológico clássico pelo parasitoide de ovos *C. noackae*, quanto a outros inimigos naturais, foi relatada a predação de ninfas de *T. peregrinus* por larvas de *C. externa* e de ninfas e adultos de *T. peregrinus* por adultos de *A. opsimus* ((WILCKEN et al., 2012; BELTRAMIN, 2013).

O controle alternativo, com a utilização de óleos essenciais, pode ser uma boa opção no manejo integrado de pragas (MIP), pois a utilização de produtos naturais no controle de insetos tem se tornado um meio eficiente para a redução do uso indiscriminado de defensivos, além de possuírem propriedades inseticidas, bactericidas, fungicidas, antisséptica e medicinais (CIMANGA et al., 2002; CANSIAN et al. 2010; KNAAK; FIUZA, 2010; ELAISSI, 2012; VALERIANO, 2012), servindo como forte aliado a outros métodos de controle de insetos, os quais ajudam a manter o equilíbrio ambiental, mitigam resíduos químicos, sem ou com reduzida ação tóxica aos animais e ao homem, contribuindo na redução dos efeitos negativos

ocasionados pela aplicação exacerbada de fitossanitários sintéticos, além de serem naturais e biodegradáveis.

Empresas florestais certificadas buscam e adotam práticas para aumentar a produtividade ao mesmo tempo em que buscam a conservação do ambiente, são empregadoras destes métodos de controle, dando preferência à utilização de produtos menos tóxicos e seletivos a inimigos naturais (FARIA, 2009). Neste sentido, ressalta-se a importância do estudo do controle alternativo com a utilização de óleos essenciais, pois além do potencial inseticida e repelente sobre insetos-pragas, constitui-se em um método aceito e com possibilidade de uso no setor florestal.

### 3.3.1 Parasitoide *Cleruchoides noackae*

Os Parasitoides geralmente são vistos como mais eficazes no controle biológico de pragas comparado aos predadores, pois são mais específicos, ficam em contato com o hospedeiro durante o estágio parasítico e não se movimentam de uma presa para outra como os predadores. Porém são mais efetivos em locais que as populações da presa são mais densas, deve-se considerar a especificidade de cada espécie envolvida, as taxas reprodutivas, o fato de serem ou não afetados por inseticidas e a capacidade predatória ou de parasitismo dos agentes de controle. (BERTI-FILHO; CIOCIOLA, 2002).

Um dos potenciais agentes no controle de *T. peregrinus* é o parasitoide de origem australiana, *C.noackae*, que vem sendo estudado pelo potencial de parasitar ovos de *T. peregrinus*. Devido à importância da praga no Brasil, pesquisadores do Programa de Proteção Florestal (PROTEF) do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF) realizaram uma primeira busca exploratória para a Austrália, para coletas a campo de ovos parasitados por *C. noackae* (SÁ, 2010).

A importação desse parasitoide, no Brasil, ocorreu em 2012, sendo realizada a primeira liberação de *C. noackae* em agosto de 2012, em Paraopeba (MG) e já foi liberado em plantios de eucalipto em Goiás, São Paulo, Maranhão, Tocantins, Bahia, Espírito Santo, Paraná, Rio Grande do Sul e Uruguai (AGROFIT, 2017).

Contudo, estão em andamento ainda estudos para avaliação do potencial de parasitismo, armazenamento de ovos parasitados ou não e dispositivos mais eficientes para liberação dos insetos nos plantios.

### 3.3.2 Óleos essenciais

Os óleos essenciais possuem propriedades terapêuticas, inseticida, repelente e antimicrobiana (ROEL, 2001). Essas propriedades são encontradas devido ao aparecimento de moléculas resultantes do metabolismo secundário das plantas, como flavonoides, taninos e terpenoides (COWAN, 1999). Os flavonoides apresentam propriedades antialimentares, esterilizantes e inseticidas (VENZON et al., 2010). Os metabólitos secundários são substâncias produzidas naturalmente pelas plantas e formam a principal forma de defesa da planta contra inimigos e competidores (MAIRESSE, 2005).

O objetivo principal do uso dos óleos essenciais é reduzir o crescimento da população de pragas, contudo a mortalidade do inseto é apenas um dos efeitos e que geralmente necessita de concentrações muito elevadas (GALLO et al., 2002). Deste modo a procura por compostos químicos naturais que mitigam o apetite de insetos estimulam estudos químicos, como o isolamento de substâncias, em plantas relatadas popularmente como possuidoras de atividade inseticida.

Os efeitos dos óleos essenciais têm sido evidenciados sobre diversos insetos. O óleo de *Azadirachta indica* (A. Juss) (nim) apresenta eficácia no controle de hemípteros, como os pulgões *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Aphididae) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) (CARVALHO, 2008). O óleo de *E. uniflora* apresenta efeito inseticida sobre *Atta laevigata* (Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae) (JUNG et al., 2013). Os óleos de *Piper aduncum* (L.) (pimenta-de-macaco), *Cymbopogon winterianus* (L.) (capim-citronela) e *A. indica* são repelentes e reduzem emergência de ninfas de *Aphis gossypii* (Glover, 1877) (Hemiptera: Aphididae) (ANDRADE et al., 2013). Souza e Favero (2015) constataram ainda que o óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) é tóxico para ninfas e adultos de *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae).

Dessa forma, pode ser um forte aliado a outros métodos de controle de insetos, o qual ajuda a manter o equilíbrio ambiental, mitigam resíduos químicos, sem ou com reduzida ação tóxica aos animais e ao homem, contribuindo na redução dos efeitos negativos ocasionados pela aplicação descontrolada de agroquímicos.

### 3.3.2.1 *Casearia sylvestris*

A espécie *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae), conhecida como chá-de-burgre, erva de lagarto, entre outros, pertence à flora brasileira com importância econômica devido às suas propriedades medicinais (SCAVONE et al., 1979). É uma planta lenhosa, arbustiva, com folhas inteiras, de disposição alterna, em geral dística, com estípulas caducas, encontrada especialmente nas regiões tropicais da América do Sul (JOLY, 1987), as folhas, a casca e a raiz possuem ação antisséptica e febrífuga, além da ação cicatrizante, o chá das folhas é usado no combate à bronquite asmática e a casca como antidiarreica, em moléstias hepáticas e também contra picada de cobra (ALMEIDA et al., 1998).

Espécie do gênero *Casearia* possuem significativa ação antiprotozoária contra *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) (SILVA et al., 2008) e efeito inseticida sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) (RODRIGUES et al., 2006). Yamamoto (1995) em teste fitoquímico, evidenciou a presença de taninos, flavonóides, saponinas e traços de alcalóides na composição do óleo essencial.

### 3.3.2.2 *Melaleuca alternifolia*

Conhecida internacionalmente como "tea tree", é uma espécie aromática da família Myrtaceae, originária da Austrália, o gênero *Melaleuca*, pertencente à subfamília Leptospermoideae, inclui aproximadamente 100 espécies nativas da Austrália e Ilhas do Oceano Índico, florescendo principalmente em áreas de pântano, próximas de rios (VIEIRA et al., 2004). Em condições naturais pode chegar a porte arbóreo com até 8,0 m de altura; a casca é fina e macia; as folhas são simples e afiladas, com cerca de 2,0 cm de comprimento (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

Apresenta grande interesse econômico devido à presença de óleo essencial armazenado no tecido foliar. O constituinte predominante do óleo essencial é o terpinen-4-ol que possui propriedades medicinais, principalmente antifúngicas e antibacterianas (VIEIRA et al., 2004). Este óleo ainda apresenta ação antimicrobiana, antiviral, antifúngica, antisséptica, anti-inflamatória e cicatrizante (CARSON et al., 1995; HAMMER et al., 2000, GOVINDARAJAN, 2009).

### 3.3.2.3. *Eugenia uniflora*

O gênero *Eugenia* um dos maiores da família Myrtaceae, com mais de 500 espécies, das quais aproximadamente 400 encontram-se no Brasil, têm destaque especial por serem utilizadas como plantas medicinais. A *Eugenia uniflora* L. conhecida popularmente como pitangueira, que apresenta porte arbóreo, semidecídua, de 4m a 10m de altura, copa estreita, de tronco liso de cor pardo clara. As folhas são simples, cartáceas, de 3 a 7 cm de comprimento, com aroma característico. As flores são de cor branca, solitárias ou em grupos de 2 a 3 nas axilas e nas extremidades dos ramos. Os frutos são do tipo drupa, globosos e sulcados, brilhantes e de cor vermelha, amarela ou preta, com polpa carnosa e agridoce, contendo 1 a 2 sementes (LORENZI; MATOS, 2002).

As propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas de folhas de pitangueira, foram encontrados, no óleo essencial, diversos compostos como sesquiterpenos, compostos fenólicos, alcalóides, entre outros grupos, com atividade antimicrobiana (AURICCHIO; BACCHI, 2003). Essa diversidade de metabólitos secundários presente na pitangueira pode apresentar potencial para utilização de compostos da planta para ativação de rotas de defesa em outras plantas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios com *T. peregrinus* foram conduzidos nos Laboratório de Controle Biológico I e II da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV). Os bioensaios com *C. noackae* foram realizados no Laboratório de Entomologia Florestal e a cromatografia gasosa dos óleos essenciais no Laboratório de Produtos Florestais não Madeiráveis, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Embrapa Florestas, Colombo-PR. O teste de indução de resistência foi realizado no laboratório de Fisiologia vegetal da UTFPR-DV.

### 4.1 Criação de *Thaumastocoris peregrinus*

Os percevejos foram criados sobre ramos de *Eucalyptus dunnii* (Maiden) (Myrtales: Myrtaceae), coletados no reflorestamento da UTFPR-DV. Os ramos foram mantidos na forma de “buquê” em frascos de erlenmeyers de 500 mL (Modelo 148) com água, para conservar a turgidez das folhas e trocados semanalmente. Para a oviposição dos insetos, foram utilizadas tiras de papel toalha disposta sobre os buquês. Os ovos foram coletados diariamente e acondicionados em B.O.D. (Marq-Labor<sup>®</sup>) à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $70 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h até a utilização. A criação foi mantida em sala climatizada à temperatura de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $60 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h, seguindo-se metodologia proposta por Barbosa et al (2016).



Figura4: Criação de *Thaumastocoris peregrinus* sobre ramos de *Eucalyptus dunnii* em sala climatizada a  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $60 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 horas.

Fonte: Stenger, 2017.

## 4.2 Criação de *Cleruchoides noackae*

Os parasitoides foram criados de acordo com a metodologia adaptada de SAG (2010), em ovos de *T. peregrinus* (24 horas de idade) a  $24 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10$  % UR, fotoperíodo de 12 h, em frascos de poliestireno transparente de 7,5 cm de altura e 3 cm de diâmetro e alimentados com solução de mel a 50% fornecida em tiras de papel de filtro de 0,5 cm largura e 5,0 cm de comprimento. A proporção de um casal de *C. noackae* para dez ovos de *T. peregrinus* por frasco de criação foi utilizada, com tempo de parasitismo de 24 horas. Os insetos com idade de até 24 horas pós-emergência foram utilizados nos experimentos. Este método foi adaptado de (Figura 5).

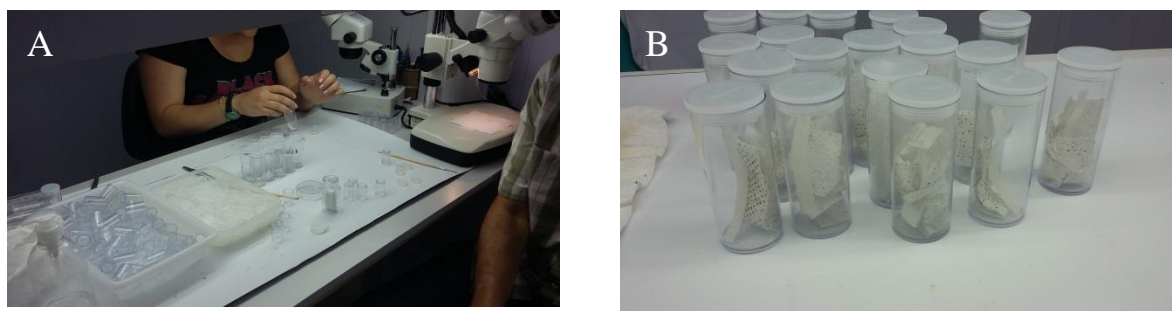


Figura 5: A: Replicação do parasitoide *Cleruchoides noackae*. B: Criação de *Cleruchoides noackae* em ovos de *T. peregrinus* (24 horas de idade) a  $24 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10$  % UR, fotoperíodo de 12 horas, alimentados com solução de mel a 50% fornecida em tiras de papel de filtro.  
Fonte: Stenger, 2017.

## 4.3 Obtenção dos óleos Essenciais

Os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* na concentração pura (100%) foram obtidos na empresa Garden City de Ibiúna, SP, o qual foi extraído das folhas pelo método de arrasto de vapor, e estes foram acondicionados em frascos de vidro âmbar e mantidos em geladeira (Brastemp<sup>®</sup>), refrigerados à  $\pm 4$ °C até utilização.

#### 4.3.1 Cromatografia

As amostras dos óleos essenciais foram analisadas por meio de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizando o equipamento Shimadzu® (modelo GC17A®), com detector seletivo de massas (QP5050 - Shimadzu®). As amostras foram injetadas com divisão de fluxo (Split) 1:50 (1µl), e separadas através de coluna cromatográfica modelo DB-5 (30 m x 0,025mm, Agilent®). A separação dos compostos foi feita com temperatura do injetor a 230°C, linha de transferência 250°C, com fluxo constante e compensação a vácuo. Seguiu-se a programação de temperatura do forno; 40°C, isoterma de 6 minutos, aquecimento até 300°C na taxa de 3°C min<sup>-1</sup>, com isoterma final de 5 minutos. O espectrômetro de massas foi operado no modo positivo de ionização por impacto de elétrons á 70 eV, com temperatura da fonte de íons em 200°C.

#### 4.4 Obtenção das mudas de *E. benthamii*

As mudas de *E. benthamii* foram obtidas no viveiro comercial Golden Tree Reflorestadora com, aproximadamente, quatro meses de idade, contendo em seu substrato Carolina Soil®, turfa condensada e vermiculita. As mudas de *E. benthamii* foram trazidas para Unidade de Ensino e Pesquisa Viveiro de Produção de Mudas da UTFPR-DV, no qual permaneceram mantidas em casa de sombreamento, com irrigação por aspersão, realizada duas vezes ao dia.

As mudas foram avaliadas quanto sua altura total, diâmetro da altura do peito (DAP), tomada a 15 cm de altura e pelo número de folhas (Tabela 1), as quais não diferenciaram ente si, pelos grupos que constituíram cada repetição. O delineamento experimental foi composto por quatro tratamentos com quatro repetições, contendo 20 mudas cada.

Tabela 1: Variáveis dendrométricas: Altura total (cm), Diâmetro a altura do peito (cm) e número de folhas das mudas de *Eucalyptus benthamii*.

Tratamento	Altura total (cm)	DAP (cm)	Números de folhas
Testemunha	34,96 <sup>ns</sup>	1,51 <sup>ns</sup>	26,87 <sup>ns</sup>
<i>M. alternifolia</i>	38,45	1,70	28,63
<i>C. sylvestris</i>	39,82	1,62	29,03
<i>E. uniflora</i>	37,47	1,77	28,72

ns – não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro.

#### 4.5 Toxicidade de óleos essenciais sobre *T. peregrinus*

Folhas de *E. dunnii* foram imersas por dois segundos em solução dos óleos essenciais *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* (1,0%), e água destilada esterilizada para compor a testemunha (controle). Posteriormente, as folhas foram secas em Câmara de Fluxo Unidirecional Laminar (horizontal) (modelo FUH-12 – Veco<sup>®</sup>) por 15 minutos. O pecíolo das folhas foi mantido constantemente em contato com água, em microtubos de centrifugação (Eppendorf<sup>®</sup>) de 2,0 mL, com orifício no centro da tampa para manter a turgidez das folhas. Folhas tratadas foram introduzidas individualmente em caixas gerbox de 250 mL (Germifolha<sup>®</sup>) transparente, com 10 insetos adultos, transferidos com auxílio de pincel (n° 0) de cerdas macias. Estas caixas foram mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D. (Marq-Labor<sup>®</sup>) à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $70 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h. Foram utilizados 10 insetos por repetição, com cinco repetições por tratamento. A mortalidade de insetos foi avaliada a cada seis horas, por um período de 144 horas, para avaliação da toxicidade dos óleos essenciais.

A partir dos resultados obtidos, foi selecionado o óleo essencial (*E. uniflora*) que causou o maior percentual de mortalidade em *T. peregrinus*. Para avaliar o potencial inseticida do óleo selecionado foram testadas as concentrações de 0,25%; 0,50%; 0,75%; 1,00%; 1,25% e testemunha, sobre insetos adultos, ninfas de 3° ínstar e ovos de *T. peregrinus*. As variáveis avaliadas e procedimentos foram os mesmos descritos anteriormente, e avaliados durante 74 horas.

Para o bioensaio com ovos, foram obtidos ovos (até dois dias de idade), sendo observados em microscópio estereoscópio binocular 200M (modelo 07764ZT, Quimis<sup>®</sup>)

quanto a sua viabilidade. Os ovos também receberam os tratamentos, conforme descrito anteriormente. Foram utilizados 20 ovos de *T. peregrinus*, por repetição, com 10 repetições por tratamento. Os experimentos foram mantidos em sala climatizada à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $40 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.

As variáveis analisadas foram porcentagem de ovos com eclosão de ninfas de *T. peregrinus*, porcentagem de ovos sem eclosão de ninfas de *T. peregrinus* e porcentagem de ovos com ninfas de *T. peregrinus* retidos.

#### 4.6 Seletividade de *E. uniflora* a *C. noackae*

##### 4.6.1 Teste de confinamento–pré-parasitismo

Ovos de *T. peregrinus*, com um dia de idade, foram imersos por dois segundos em solução do óleo essencial de *E. uniflora* a 0,75% sendo posteriormente mantidos ao ar livre por 40 minutos para secagem. O mesmo procedimento foi realizado com água destilada esterilizada (testemunha). Após, grupo de 20 ovos tratados, foram mantidos por 24 horas com casal de *C. noackae* (24 horas de vida) em tubos de poliestireno transparente com tampa (7,5 cm de altura x 3,0 cm de diâmetro) (modelo K30-1275PS – Kasvi®). Tiras de papel de filtro (0,5 cm x 0,5 cm) umedecidas com solução de mel (50%) foram utilizadas para a alimentação dos insetos. O bioensaio contou com 20 repetições por tratamento, mantidas em sala climatizada a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $40 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.

A porcentagem de ovos parasitados foi obtida através da equação:

$$Pp = \frac{np(\text{♀} + \text{♂} + r) \times 100}{10}$$

Onde, Pp= porcentagem de ovos parasitados, np = número de ovos parasitados (♀ de *C. noackae* + ♂ de *C. noackae* + ovos inviabilizados), 10 = número de ovos ofertados de *T. peregrinus*.

A porcentagem de *C. noackae* emergidos foi calculada pela equação:

$$Pe = \frac{Te(\text{♀} + \text{♂}) \times 100}{10}$$

Em que  $Pe$  = Porcentagem de emergência de *C. noackae*,  $Te$  = Total de *C. noackae* emergidos ( $\text{♀} C. noackae + \text{♂}$  de *C. noackae*) e 10 = número de ovos ofertados de *T. peregrinus*.

A razão sexual de *C. noackae* foi obtida pela equação:

$$R = \frac{\text{♀}}{(\text{♂} + \text{♀})}$$

Onde  $R$  = razão sexual,  $\text{♀}$  = total de fêmeas de *C. noackae* emergidas,  $\text{♂}$  = total de machos de *C. noackae* emergidos.

Para a sexagem de *C. noackae* foi utilizada a diferença na morfologia da antena: clavada para fêmea e filiforme para o macho (LIN et al., 2007). Esses bioensaios foram avaliados até a segunda geração parental (F2) de *C. noackae*.

#### 4.6.2 Teste de confinamento–pós-parasitismo

- Um dia pós-parasitismo – grupos de 10 ovos de *T. peregrinus*, com um dia de idade, foram acondicionados em tubos de poliestireno transparente (7,5 cm de altura x 3,0 cm de diâmetro), juntamente com casal (fêmea e macho) de *C. noackae* e uma tira de papel filtro (0,5 cm x 0,5 cm) umedecido com solução de mel a 50%. Os tubos foram acondicionados em sala climatizada à temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $40 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h. Depois de 24 horas, o casal de *C. noackae* foi retirado do tubo. Um dia após o parasitismo esses mesmos ovos foram imersos, durante dois segundos, na solução do óleo essencial de *E. uniflora* na concentração 0,75%. Para o bioensaio testemunha, estes, foram imersos em água destilada esterilizada. Todos os ovos foram deixados secar ao ar livre, durante 40 minutos, e posteriormente acondicionados novamente nos tubos que retornaram para as mesmas condições de temperatura, umidade e fotoperíodo descritos.

- Sete dias pós-parasitismo – grupos de 10 ovos de *T. peregrinus* foram submetidos aos mesmos procedimentos descritos no teste anterior, e sete dias após o parasitismo esses ovos foram tratados, por imersão, durante dois segundos, com óleo de *E. uniflora* na concentração 0,75% e para a testemunha em água destilada esterilizada. Os tratamentos foram deixados secar ao ar livre durante 40 minutos e armazenados novamente nos tubos que retornaram para as mesmas condições de temperatura, umidade e fotoperíodo descritos.

Para cada bioensaio (pré-parasitismo, pós parasitismo um dia e sete dias ) foram utilizadas 10 repetições, sendo cada tubo considerado uma repetição. As avaliações foram realizadas após a emergência do parasitoide *C. noackae*.

As variáveis biológicas avaliadas foram porcentagem de ovos parasitados por *C. noackae*, porcentagem de *C. noackae* emergidos, razão sexual de *C. noackae* e porcentagem de ninfas de *T. peregrinus* eclodidas, conforme descrito anteriormente. Esses bioensaios foram avaliados até a segunda geração parental (F2) de *C. noackae*.

#### **4.7 Indução de resistência em *E. benthamii***

Foi avaliado o potencial elicitador dos óleos essenciais, *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* sobre *E. benthamii*, na concentração de 0,75% ajustada em água destilada esterilizada e Tween 80<sup>®</sup> (0,01%). Para a testemunha, utilizou-se aplicação de água destilada esterilizada e Tween 80<sup>®</sup> (0,01%). A aplicação dos óleos essenciais foi realizada com borrifador manual, sendo pulverizados 4 mL da solução sobre cada muda de *E. benthamii*, constituindo-se no ponto de escorrimento sobre as folhas. As pulverizações e análises foram realizadas em dois momentos, sendo o primeiro efetuando-se aos 30 dias após recebimento do material, procedendo-se as análises 30 dias após a esta. Na segunda, fez-se as pulverizações sete dias após a primeira análise, analisando-se as mesmas variáveis depois de 3 dias.

Em ambas pulverizações realizaram-se as análises bioquímicas dos tecidos foliares quanto aos teores de açúcares totais, proteínas totais, peroxidases, fenilalanina amônia-ase (FAL) e compostos fenólicos.

##### **4.7.1 Açúcares Totais**

Foi determinadas pelo método fenolsulfúrico descrito por DUBOIS et al. (1956). As amostras com, aproximadamente, 1g de tecido foliar foram maceradas em almofariz contendo 5 mL de tampão fosfato 0,2M – pH 7,5. Os extratos foram acondicionados em tubos eppendorf devidamente identificados, levados para a centrífuga por 10 minutos a 12.000 rpm e a 4° C. Utilizou-se 0,02 mL do extrato, 0,5 mL de fenol a 5,0% e 2,5 mL ácido sulfúrico

concentrado. A leitura das amostras foi realizada a 490 nanômetros (nm). A concentração de açúcares totais foi determinada por meio de curva padrão de glicose.

#### 4.7.2 Proteínas

A quantificação das proteínas ocorreu pelo método BRADFORD (1976). As amostras com, aproximadamente, 1 g de tecido foliar foram maceradas em almofariz, adicionado 5 mL da solução tampão Fosfato 0,2 Molar pH 7,5. Os extratos foram transferidos em tubos eppendorf devidamente identificados e centrifugados durante 10 minutos a 12.000 rpm e a 4° C. Foi transferido 40 µL do extrato sobrenadante para tubos de ensaio, adicionado 460 microlitros de água destilada e 1 mL do reagente Bio-Rad diluído 1:4, agitado em vórtex, colocado na cubeta de vidro, analisado ao espectrofotômetro, procedendo à leitura a 630 nm para obter valor da absorbância.

#### 4.2.3 Peroxidase

A extração e determinação da enzima de peroxidase foi realizada pelo método preconizado por MATSUNO e URITANI (1972), no qual foram coletados, aproximadamente, 1 g de tecido foliar e colocados em recipiente de porcelana refrigerado, pois esta análise deve-se processar a temperatura inferior a 4°C. As amostras foram maceradas com 4,0 mL tampão fosfato 0,05 M (pH 7) com 0,005 g polivinilpirrolidona. Os extratos foram acondicionados em tubos eppendorf devidamente identificados, levados para a centrífuga por 20 minutos, a 4°C e a 5000 rpm. Após centrifugação, foi retirado 3,0 mL do sobrenadante e colocado em tubos de ensaios identificados, aonde encontrava-se o preparado de 5,0 mL do tampão citrato (pH 5,0), 0,5 ml água oxigenada a 3 % e 0,5 ml guaiacol 0,5 %. A solução foi agitada em vórtex e colocada por 15 minutos em banho-maria 30°C e após 10 minutos em gelo. Adicionou-se 0,5 mL de bisulfito de sódio, agitada e então realizada a leitura a 450 nm em espectrofotômetro, obtendo-se assim os valores de absorbância.

#### 4.7.4 Fenilalanina amônia-liase (FAL)

A determinação da atividade da FAL foi por quantificação colorimétrica do ácido transcinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por Rodrigues et al. (2006). Foram coletados, aproximadamente, 1 g de tecido foliar e estes foram maceradas à temperatura ambiente em almofariz, adicionados 6,0 mL do tampão TRIS – HCL pH 8,0 previamente resfriado. Este extrato foi acondicionado em tubos eppendorf devidamente marcados que foram levados para a centrífuga por 10 minutos, a 4°C e a 6000 rpm. Na sequência, foi transferido alíquota de 200 µL para tubo de ensaio identificado, acrescentando-se 5,0 mL do tampão de extração. A solução foi agitada em vórtex, obtendo-se, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5 mL foi transferido para outro tubo de ensaio, com 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, esta solução foi agitada para homogeneização e os tubos foram incubados em banho-maria, por 60 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim realizar a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

#### 4.7.5 Compostos Fenólicos

A determinação compostos fenólicos foi realizada em duas etapas, seguindo-se o método adaptado de BIELESKI e TURNER (1966). Na primeira fase foram coletados, aproximadamente, 1 g de tecido foliar e estes foram maceradas à temperatura ambiente em almofariz com 4 mL da solução MCA (metanol, clorofórmio, água 6/2,5/1,5), acondicionados em eppendorf, sendo centrifugados a 6.000 rpm a 20 °C por 20 minutos. Posteriormente, foi coletado o sobrenadante total e na sequência realizada nova extração do resíduo remanescente, adicionando-se 4 mL de MCA, agitado em vórtex e centrifugando novamente a 6000 rpm, por 20 minutos e o sobrenadante sendo adicionado ao primeiro, obtendo-se assim o extrato MCA. A esse extrato foi adicionado 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água destilada, procedendo-se nova centrifugação a 6000 rpm, por 15 minutos. A segunda etapa compreendeu a determinação de fenóis totais realizada pelo método adaptado de JENNINGS (1991). As amostras foram preparadas a partir da retirada de alíquota de 0,5 mL da parte superior do tubo de extração dos fenóis (extrato MCA), adicionando-se 0,5 mL de água

destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído 1:10. Depois de 15 minutos, foram adicionados 5 mL do reagente alcalino “A” (preparado com carbonato de sódio a 2 % em solução de hidróxido de sódio 0,1 N), que permaneceu durante 50 minutos até a leitura da absorbância em 760 nm, em espectrofotômetro, (modelo SP-2000UV- Spectrum). O resultado foi expresso em  $\text{mg.GAE.g}^{-1}$  de tecido fresco. A quantificação de fenóis foi feita através de curva padrão utilizando tirosina.

#### **4.8 Análise Estatística**

A toxicidade dos óleos essenciais foi submetida ao teste de normalidade de Lilliefors e na sequência à análise de variância (ANOVA) pelo teste F. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o *software* Assistat<sup>®</sup> (SILVA; AZEVEDO, 2016).

Para indução de resistência os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Lilliefors, efetuando-se a transformação dos dados para açúcares totais, proteínas, peroxidase, FAL e fenóis para o bioensaio 30 dias e fenóis para o bioensaio 3 dias, segundo raiz quadrada de  $x+1$ . Na sequência, os dados das variáveis transformadas ou não foram submetidas à análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade, utilizando o *software* Genes<sup>®</sup>.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Toxicidade de óleos essenciais sobre *T. peregrinus*

O óleo essencial de *C. sylvestris* e *E. uniflora* foram tóxicos e provocaram as maiores porcentagens de mortalidade de *T. peregrinus*, 24 horas após contato dos adultos com as folhas que receberam tais tratamentos (80 e 78%, respectivamente). Por outro lado, o tratamento com *M. alternifolia* e a testemunha provocaram as menores porcentagens de mortalidade em adultos de *T. peregrinus* em tal período. Contudo, analisando-se as mortalidades nas 48, 72, 96 e 144 horas, as mesmas não apresentaram médias que diferiram entre si, quanto aos tratamentos utilizados, voltando a ocorrer somente diferenças entre os mesmos, nas 120 horas, tendo o tratamento com *M. alternifolia* provocado a maior média de mortalidade em relação às demais. Verificou-se que os óleos essenciais de *E. uniflora* e *C. sylvestris*, ocasionaram 100% de mortalidade em adultos de *T. peregrinus* (Tabela 2).

Tabela 2: Porcentagem de mortalidade ( $\pm$  EP) e mortalidade acumulada ( $\pm$  EP) de adultos de *T. peregrinus* em contato com folhas de *E. dunnii* imersas em óleos essenciais *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* (concentração 1,0%) à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $70 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.

Mortalidade de adultos <i>T. peregrinus</i>							% Mortalidade acumulada
Tratamentos	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	
Testemunha	8,0 $\pm$ 0,37b	12,0 $\pm$ 0,73ns	4,0 $\pm$ 0,4ns	0,0 $\pm$ 0,00ns	2,0 $\pm$ 0,20b	0,0 $\pm$ 5,10ns	26,0 $\pm$ 5,09c
<i>M. alternifolia</i>	14,0 $\pm$ 0,67b	6,0 $\pm$ 0,40	16,0 $\pm$ 0,81	8,0 $\pm$ 0,20	22,0 $\pm$ 0,48a	8,0 $\pm$ 3,74	74,0 $\pm$ 3,74b
<i>C. sylvestris</i>	80,0 $\pm$ 0,83a	10,0 $\pm$ 0,77	2,0 $\pm$ 0,20	8,0 $\pm$ 0,58	0,0 $\pm$ 0,00b	0,0 $\pm$ 0,00	100,0 $\pm$ 0,00a
<i>E. uniflora</i>	78,0 $\pm$ 0,58a	22,0 $\pm$ 0,58	0,0 $\pm$ 0,00	0,0 $\pm$ 0,00	0,0 $\pm$ 0,00b	0,0 $\pm$ 0,00	100,0 $\pm$ 0,00a
<i>P</i>	<0,0001	0,3666	0,1056	0,1224	<0,0001	0,1733	<0,0001

ns: não significativo \* Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O óleo essencial de *E. uniflora* apresentou, juntamente com *C. sylvestris* toxicidade sobre adultos de *T. peregrinus* em relação ao óleo de *M. alternifolia*. A aplicação do óleo essencial de *M. alternifolia* também apresentou toxicidade, no entanto, com taxas inferiores ao apresentado por *E. uniflora* e *C. sylvestris* em adultos de *T. peregrinus*. O óleo essencial de

*M. alternifolia* apresenta eficiência acaricida sobre *Otodectes cynotis* (Hering, 1838) (Astigmata: Psoroptidae) (NEVES et al., 2012), atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (TORRES et al., 2014) e ação fungicida sobre *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz. & Sacc.) (Glomerellaceae: Colletotrichum) (RAMOS et al., 2014).

O óleo essencial de *E. uniflora* foi selecionado com base na mortalidade provocada em adultos de *T. peregrinus* (Tabela 2) e pela facilidade de encontrar plantas desta espécie, consequentemente obter o óleo essencial.

Nas concentrações de 0,50%, 0,75%, 1,00% e 1,25% do óleo essencial de *E. uniflora* observou-se as maiores porcentagens de mortalidade de adultos de *T. peregrinus* nas primeiras 24 horas e por meio da porcentagem de mortalidade acumulada (Tabela 3).

Por outro lado, testes realizados com ninfas de 3º ínstar de *T. peregrinus*, demonstraram superioridade de mortalidade deste inseto quando submetidos à concentração de 1,00% do óleo de *E. uniflora* analisado nas 24, 48, 72 horas e pelo efeito acumulado. Contudo, as médias de mortalidade obtidas com essa concentração não diferiram para 1,25% nas 24 horas e para 0,75% e 1,25% nas 48 horas (Tabela 3).

Tabela 3: Porcentagem de mortalidade ( $\pm$  EP) e mortalidade acumulada ( $\pm$  EP) de adultos e ninfas de 3º ínstar de *T. peregrinus* em contato com folhas de *E. dunnii* imersas em óleo essencial *E. uniflora* nas concentrações 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,0%, 1,25% à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $70 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.

Tratamentos	Mortalidade (%)			% Mortalidade acumulada
	24 h	48 h	72h	
Testemunha	8,0 $\pm$ 0,58c	0,0 $\pm$ 0,00b	8,0 $\pm$ 0,37 <sup>ns</sup>	14,0 $\pm$ 6,78c
Adultos	0,25	38,0 $\pm$ 0,66bc	2,0 $\pm$ 0,20b	50,0 $\pm$ 8,94bc
	0,50	58,0 $\pm$ 0,66ab	10,0 $\pm$ 0,00ab	76,0 $\pm$ 8,71ab
	0,75	76,0 $\pm$ 0,67a	6,0 $\pm$ 0,24b	78,0 $\pm$ 19,59ab
	1,00	72,0 $\pm$ 0,86a	22,0 $\pm$ 0,58a	94,0 $\pm$ 4,00a
	1,25	80,0 $\pm$ 0,89a	4,0 $\pm$ 0,40b	94,0 $\pm$ 2,44a
<i>p</i>	<0,0001	0,0006	123,23	<0,0001
Testemunha	0,0 $\pm$ 0,00b	0,0 $\pm$ 0,00b	0,0 $\pm$ 0,00b	0,0 $\pm$ 0,00c
Ninfas 3º ínstar	0,25	2,0 $\pm$ 0,20b	0,0 $\pm$ 0,00b	6,0 $\pm$ 2,44c
	0,50	4,0 $\pm$ 0,24b	0,0 $\pm$ 0,00b	10,0 $\pm$ 4,89c
	0,75	6,0 $\pm$ 0,24b	6,0 $\pm$ 0,04ab	14,0 $\pm$ 0,51b
	1,00	22,0 $\pm$ 0,58a	18,0,0 $\pm$ 0,86ab	40,0 $\pm$ 0,55a
	1,25	10 $\pm$ 0,45ab	22,0 $\pm$ 0,37a	16,0 $\pm$ 0,40b
<i>P</i>	0,0021	0,0013	<0,0001	<0,0001

ns: não significativo \* Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O óleo essencial de *E. uniflora*, quando em contato com adultos e ninfas de 3º ínstar de *T. peregrinus*, em todas as concentrações testadas, provocou mortalidade, além de afetar a eclosão de ninfas de *T. peregrinus*. Este óleo, provoca, em adultos de *Sitophilus zeamais* (Mots., 1855) (Coleoptera: Curculionidae) repelência mortalidade (100%) (COITINHO et al., 2011) e na concentração de 1,25% provoca mortalidade em soldados de *A. laevigata* (84,4%) (JUNG et al., 2013). Além do óleo essencial, o extrato aquoso de folhas de *E. uniflora* também apresenta efeito inseticida sobre *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (TORRES et al., 2001) e sobre *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) (MACHADO et al., 2007), ambos a 10% de concentração.

A porcentagem de ovos eclodidos nas primeiras 48 horas foi menor quando os mesmos foram tratados com óleo de *E. uniflora* a 1,25% diferindo da testemunha. Após 72 horas de contato com o óleo de *E. uniflora* (nas concentrações 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,00% e 1,25%) houve redução na porcentagem dos ovos de *T. peregrinus* com eclosão de ninfas que diferiram da testemunha (Tabela 4).

A porcentagem de ovos de *T. peregrinus* sem eclosão de ninfas após o contato com o óleo de *E. uniflora*, foi maior na concentração de 1,00%. Já a porcentagem de *T. peregrinus* retidos nos ovos, quando tratados com o óleo essencial de *E. uniflora*, foi maior quando estes foram tratados com o óleo essencial a 0,50% e 1,25% (Tabela 4).

Tabela 4: Porcentagem de ninfas de *T. peregrinus* eclodidas ( $\pm$  EP), porcentagem acumulada de ninfas de *T. peregrinus* eclodidas ( $\pm$  EP), porcentagem de ovos sem eclosão ( $\pm$  EP) e porcentagem de ovos com *T. peregrinus* retidos ( $\pm$  EP) tratados com óleo essencial de *E. uniflora* nas concentrações 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,0% e 1,25% à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $70 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.

Tratamentos	Ninfas de <i>T. peregrinus</i> eclodidas <sup>1</sup>			% acumulada Ninfas de <i>T. peregrinus</i> eclodidas <sup>2</sup>	% de ovos sem eclosão <sup>3</sup>	% de <i>T. peregrinus</i> retidos <sup>4</sup>
	Concentrações	24h	48h			
Testemunha	3,34 $\pm$ 1,01 <sup>ns</sup>	34,22 $\pm$ 4,66ab	55,71 $\pm$ 4,97a	93,26 $\pm$ 2,0a	2,82 $\pm$ 1,10b	3,92 $\pm$ 1,70c
0,25	1,0 $\pm$ 0,66	21,00 $\pm$ 7,59ab	21,50 $\pm$ 3,33b	43,50 $\pm$ 2,01b	20,00 $\pm$ 3,33ab	36,50 $\pm$ 7,30abc
0,50	1,5 $\pm$ 1,06	17,0 $\pm$ 8,85ab	17,48 $\pm$ 6,63b	35,98 $\pm$ 12,40b	18,00 $\pm$ 4,95ab	46,02 $\pm$ 12,22ab
0,75	3,51 $\pm$ 1,97	41,52 $\pm$ 9,10a	15,67 $\pm$ 5,56b	60,70 $\pm$ 10,04ab	24,00 $\pm$ 6,40ab	15,30 $\pm$ 5,65bc
1,00	2,0 $\pm$ 1,10	18,91 $\pm$ 5,42ab	18,91 $\pm$ 5,42b	39,82 $\pm$ 11,01b	28,00 $\pm$ 8,79a	32,18 $\pm$ 10,55abc
1,25	0,0 $\pm$ 0,00	12,27 $\pm$ 4,10b	12,27 $\pm$ 4,10b	24,54 $\pm$ 8,21b	25,00 $\pm$ 6,70ab	50,46 $\pm$ 7,78a
P	0,2296	0,0328	<,0001	<,0001	0,0414	0,0014

ns: não significativo \* Médias seguidas por letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* apresentaram efeito inseticida sobre *T. peregrinus* na fase adulta. O óleo essencial de *E. uniflora* apresentou efeito inseticida sobre adultos, ninfas de 3º ínstar e ovos de *T. peregrinus* mostrando-se seletivo ao parasitoide de ovos *C. noackae* quando aplicado pós-parasitismo (1dia).

Contudo, mesmo que o óleo essencial de *E. uniflora* tenha afetado alguns parâmetros biológicos de *C. noackae* em laboratório, o mesmo pode ser que não ocorra em campo, pois os produtos podem não entrar em contato direto com o ovo de *T. peregrinus*.

## 5.2 Seletividade do óleo essencial de *E. uniflora* a *C. noackae*

Os ovos de *T. peregrinus* tratados com o óleo essencial de *E. uniflora* (0,75%) e, posteriormente, submetidos ao parasitismo por *C. noackae*, não foram aceitos, pois apresentaram 0,0% de parasitismo, enquanto na testemunha o índice foi de 49,08%. Os ovos de *T. peregrinus* tratados com o óleo essencial de *E. uniflora* pós-parasitismo (1dia), reduziu a porcentagem destes ovos de *T. peregrinus* contabilizados como parasitados quando comparados a testemunha (46,25% e 63,72%, respectivamente). No tratamento pós-parasitismo (7 dias) o óleo essencial de *E. uniflora* reduziu o número de ovos parasitados por *C. noackae*, para 16,50%, enquanto que na testemunha verificou-se 73,00% de parasitismo (Tabela 5).

Não houve emergência (0,0%) de *C. noackae* quando tratados com óleo essencial de *E. uniflora* pré-parasitismo e pós-parasitismo (aos 7 dias) enquanto na testemunha o índice foi de 86,87% e 94,49%, respectivamente. No tratamento pós-parasitismo (1 dia), apesar de ocorrer 47,54% de emergência de *C. noackae*, este diferiu da testemunha que apresentou 92,20% de (Tabela 5).

Tabela 5: Características biológicas e de parasitismo de *C. noackae* em ovos de *T. peregrinus* tratados com óleo essencial de *E. uniflora* na concentração 0,75%, à temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $40 \pm 10\%$ , fotoperíodo de 12 h.

Geração	Parâmetros	Tratamentos	Pré-parasitismo	Pós-parasitismo 1 dia	Pós-parasitismo 7 dias	p
F1	% ovos parasitados <sup>1</sup>	Testemunha	49,08±6,45aB	63,72±5,45aA	73,0±4,65aA	<,0001
		<i>E. uniflora</i>	0,00±0,00bC	46,25±5,50bA	16,5±5,29bB	<,0001
		p	<,0001	0,0031	<,0001	--
	% de parasitoides emergidos <sup>2</sup>	Testemunha	86,87±6,43B	92,20±5,38aA	94,49±4,63aA	0,0027
		<i>E. uniflora</i>	--	47,54±5,09bA	0,00±0,00bB	<,0001
		p	--	<,0001	<,0001	--
Razão sexual <sup>3</sup>	Testemunha	0,62±0,07A	0,70±0,04aA	0,78±0,02A	0,0690	
	<i>E. uniflora</i>	--	0,45±0,08b	--	<,0001	
	p	--	0,0176	--	--	
F2	% ovos parasitados <sup>1</sup>	Testemunha	22,40	56,62±6,8a	56,62	--
		<i>E. uniflora</i>	--	15,92±4,72b	--	--
		p	--	<,0001	--	--
	% de parasitoides emergidos <sup>2</sup>	Testemunha	59,38	81,23±6,66a	72,96	--
		<i>E. uniflora</i>	--	48,57±4,60b	--	--
		p	--	0,0242	--	--
Razão sexual <sup>3</sup>	Testemunha	0,33	0,58±0,09ns	0,51	--	
	<i>E. uniflora</i>	--	0,36±0,07	--	--	
	p	--	0,0866	--	--	

\*Médias seguidas de mesma letra minúsculas, na coluna, e maiúsculas, na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

A toxicidade sobre *C. noackae*, foi verificada quando o óleo essencial de *E. uniflora* foi aplicado previamente e posteriormente (7 dias) ao parasitismo. Assim o estabelecimento da população do parasitoide foi influenciado pela aplicação do óleo essencial, o que afeta negativamente os parâmetros biológicos deste parasitoide. Óleos essenciais já haviam sido relatados como causadores de redução de parasitismo, como o óleo de sementes de *A. indica* (200µl/mL a 10% de concentração) que reduziram a longevidade e o parasitismo de fêmeas de *Uscana lariophaga* (Steffan, 1954) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Dinarmus basalis* (Rondani, 1877) (Hymenoptera: Pteromalidae) (BOEKE et al., 2003), *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (GONÇALVES-GERVÁSIO; VENDRAMIM, 2004) e *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (BROGLIO-MICHELETTI et al., 2006).

A razão sexual de *C. noackae*, emergidos de ovos de *T. peregrinus* tratados com o óleo essencial de *E. uniflora* previamente ao parasitismo e pós-parasitismo (7 dias), não pode

ser analisada estatisticamente, uma vez que não houve parasitoides emergidos nestes tratamentos. A razão sexual de *C. noackae* emergido de ovos de *T. peregrinus* tratados com óleo essencial de *E. uniflora* pós-parasitismo (1 dia) foi menor (0,45) quando comparado a respectiva testemunha (0,70) (Tabela 5).

Houve interferência na proporção de machos e fêmeas de *C. noackae* quando a aplicação do óleo essencial de *E. uniflora* foi realizado pós-parasitismo (1 dia) o que é considerado resultado insatisfatório para o controle de insetos-praga, pois taxa igual a 1 significa ausência de machos na população, o que não produz variabilidade genética, e abaixo de 0,5 não é desejável, pois proporciona maior concentração de machos em relação às fêmeas, interferindo negativamente no controle de pragas (NAVARRO, 1998).

Quando a pulverização aconteceu após o parasitismo, esta não interferiu na razão sexual, que ocorre no ato da postura, pois quando a fêmea de *C. noackae* parasita o ovo de *T. peregrinus* ela já seleciona o sexo de sua prole, o que pode ocorrer é a penetração do óleo essencial no ovo afetando seu ciclo biológico, morrendo as fêmeas que são mais exigentes nutricionalmente. Efeitos na razão sexual estão comumente relacionados à deformação do ovário durante a metamorfose, redução na qualidade de recursos nutricionais do hospedeiro e morte do embrião (GEORGE; AMBROSE, 2004; CORREIA et al, 2013).

Na geração F1, quando comparadas as três aplicações [pré-parasitismo, pós-parasitismo (1 dia) e pós-parasitismo (7 dias)] no tratamento testemunha, pode-se observar que a porcentagem de ovos de *T. peregrinus* parasitados por *C. noackae* foi menor quando tratados previamente (49,08%). Quando submetidos ao tratamento com óleo essencial de *E. uniflora*, a aplicação pós-parasitismo (1 dia), foi a que ocasionou menor interferência na porcentagem de ovos parasitados 46,25%, comparado aos outros dois métodos de aplicação (Tabela 5).

Nas três aplicações, [pré-parasitismo, pós-parasitismo (1 dia) e pós-parasitismo (7 dias)] o tratamento testemunha apresentou porcentagem de *C. noackae* emergidos menor quando tratados previamente ao parasitismo (86,87%). No entanto, quando tratados com óleo essencial de *E. uniflora*, a aplicação pré-parasitismo e pós-parasitismo (7 dias), não permitiu emergência de adultos de *C. noackae* (0,00%) (Tabela 5).

O óleo essencial de *E. uniflora* provocou baixa interferência na porcentagem de ovos de *T. peregrinus*, parasitados por *C. noackae*, quando tratados pós-parasitismo (1 dia), o que indica que o uso deste óleo pode ser empregado em conjunto com o parasitoide, desde que aplicado posteriormente ao parasitismo.

Comportamento semelhante havia sido relatado com o óleo essencial de *A. indica* (0,3%) apresentando baixa interferência sobre o parasitismo de *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lepidoptera: Pyralidae) parasitados (RAGURAN; SINGH, 1999).

Não houve geração F2 de *C. noackae* proveniente do tratamento com óleo essencial de *E. uniflora* no pré-parasitismo e pós-parasitismo (7 dias). Na aplicação pós-parasitismo (1 dia), houve geração F2. A geração F2 foi submetida aos mesmos procedimentos, verificando-se que o óleo essencial de *E. uniflora*, aplicado pós-parasitismo (1 dia) interferiu no parasitismo de *C. noackae* (F2) sobre ovos de *T. peregrinus* (15,92% de ovos parasitados) comparado a testemunha (56,62% de ovos parasitados). A porcentagem de *C. noackae*, emergidos desses ovos também diferiu entre a testemunha (81,23%) e o óleo essencial de *E. uniflora* (48,57%). A razão sexual de *C. noackae* não diferiu entre testemunha e o tratamento com o óleo essencial de *E. uniflora* (Tabela 5).

Os parâmetros avaliados nas metodologias de aplicação em pré- parasitismo e pós-parasitismo (7dias) deverão passar por novos estudos em condições de casa de vegetação, para avaliar o efeito em condições menos extremas, e assegurar, ou não, a seletividade à *C. noackae*. Recomenda-se para pesquisas futuras avaliações em concentrações e tempos diferentes, previamente ao parasitismo e posterior a este, complementando com testes em casa de vegetação e a campo.

### 5.3 Cromatografia Gasosa

Os compostos majoritários encontrados na análise de cromatografia em *M. alternifolia* foram de 1,8-cineol (72,31%) a-terpineol (8,55%). Esses componentes monoterpenos são conhecidos pela atividade antimicrobiana e capacidade de inibir microorganismos como *Staphylococcus aureus* (Micrococcaceae: Staphylococcus) (GACHKAR et al., 2007). Porém, acredita-se que este efeito não ocorre nas mesmas proporções sobre *T. peregrinus*, apresentando baixa eficiência (Tabela 6).

Tabela 6: Componente dos óleos essenciais em análise cromatografia líquida (HLPC).

Óleos essenciais	Composto	% Relativa
<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,8-cineol	72,31
	a-terpineol	8,55
	a-thujineno	6,1
	b-pineno	1,57
	aromadentreno	1,4
	Mirceno	1,3
	p-cimeno	1,26
	Outros	2,72

Já para espécie *C. sylvestris* foram g-muroleno (19,55%), a-zingibereno (15,24%) e s-amorfeno (13,17%). O relato existente na literatura com pesquisas realizadas para o controle de insetos com *C. sylvestris* tratam de extrato alcoólico sobre larvas de *A. aegypti* (RODRIGUES et al., 2006). O efeito do óleo essencial de *C. sylvestris* pode estar relacionado à sua composição, o qual apresentou como componentes majoritários os sesquiterpenos: g muroleno (19,55%), a-zingibereno (15,24%), s-amorfeno (13,17%), b-elemento (6,43%), estes, segundo Antonious e Kochhar (2003) possuem ação inseticida e repelente (Tabela 7).

Tabela 7: Componente dos óleos essenciais em análise cromatografia líquida (HLPC).

Óleos essenciais	Composto	% Relativa
<i>Casearia sylvestris</i>	g-muroleno	19,55
	a-zingibereno	15,24
	s-amorfeno	13,17
	b-elemento	6,43
	E-cariofileno	5,66
	germacreno B	4,26
	a-copaeno	3,63
	aristolocheno	3,62
	s-elemento	3,58
	b-gurjuneno	2,51
	a-humureno	1,83
	a-muroleno	1,79
	epi-a-cadinol	1,79
	a-cadinol	1,68
	a-patchouleno	1,36
g-patchouleno	1,32	

O óleo de *E. uniflora* apresenta calamen-10-ona (20,2%), silfiperferol-6-em-5-ona (10,06%), germacrona (6,61%), gemacreno B (6,24%) em sua constituição, o que pôde proporcionar, sobre *T. peregrinus*, tal efeito de toxicidade. Esses constituintes são terpenos, como os mono e sesquiterpenos, que são compostos lipofílicos que apresentam interferências tóxicas ocasionando alterações fisiológicas e comportamentais em insetos (PRATES; SANTOS, 2002).

No entanto, Brun e Mossi (2010) descreveram como compostos majoritários da caracterização química do óleo essencial de *E. uniflora*, Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (31,16%) Atractilona (29,80%) e Furanodiona (8,26%). Esta divergência na composição química do óleo essencial pode ser em consequência da procedência genética da espécie, a época de coleta, do clima e do tipo de solo, fatores bióticos ou abióticos (SIMÕES; SPITZE, 1999), como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação, nutrientes, altitude, entre outros, que podem causar variações significativas na sua composição química (GOBBO; LOPES, 2007). Porém, ressalta-se que independente desta caracterização, obteve-se efeito desejável de toxicidade (Tabela 8).

Tabela 8: Componente dos óleos essenciais em análise cromatografia líquida (HLPC).

Óleos essenciais	Composto	% Relativa
<i>Eugenia uniflora</i>	calamen-10-ona	20,21
	silfiperferol-6-em-5-ona	10,06
	Germacrona	6,61
	Gemacreno B	6,24
	Curzereno	5,79
	s-amorfeno	5,46
	E- cariofileno	5,18
	a-cubeno	3,05
	a-gurjuneno	2,43
	b-elemeno	2,16
	macrocarpeno	1,92
	Valenceno	1,73
	amorfa-4,7(11)-dieno	1,67
	g-gurjuneno	1,66
	trans-calameneno	1,47
	E-b-cimeno	1,22
Outros	3,53	

#### 5.4 Indução de resistência em *E. benthamii*

Os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* quando pulverizados sobre as mudas de *E. benthamii* e analisados depois de 30 dias não provocaram efeito significativo nos teores de açúcares totais, proteínas, peroxidase, atividade de FAL e compostos fenólicos (Tabela 9).

Tabela 9: Concentração de açúcares totais (mg.g tecido<sup>-1</sup>), proteínas (mg.g tecido<sup>-1</sup>), peroxidase (mg.g tecido<sup>-1</sup>), FAL (UAbs.µg prot.mL<sup>-1</sup>) compostos fenólicos (mg.GAE.g-1), em de mudas de *E. benthamii* pulverizadas com os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* e avaliadas depois de 30 dias.

Tratamento	Açúcares Totais (mg.g tecido <sup>-1</sup> )	Proteínas (mg.g tecido <sup>-1</sup> )	Peroxidase (mg.g tecido <sup>-1</sup> )	FAL (UAbs.µg prot.mL <sup>-1</sup> )	Compostos fenólicos (mg.GAE.g-1)
Testemunha	11,488ns	0,159ns	30,644ns	0,228ns	579,497ns
<i>M. alternifolia</i>	29,950	0,186	33,994	0,203	449,016
<i>C. sylvestris</i>	14,579	0,174	79,669	0,175	445,547
<i>E. uniflora</i>	25,381	0,180	30,115	0,138	409,687
CV %	23,68	13,79	5,39	6,68	10,32
<i>p</i>	0,1238	0,4407	0,5872	0,4760	0,1621

ns – não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Isso demonstrou que o efeito indutor de defesa não é permanente, uma vez que, aos três dias após a aplicação obteve resultados contrários com efeito significativo destes tratamentos sobre as mesmas variáveis citadas, sendo exceção apenas para fenóis (Tabela 9).

A maioria dos estudos realizados (RODRIGUES et al., 2006; COUTO et al., 2009) com uso de indutores de resistência a patógenos avalia a atividade metabólica de defesa nos primeiros dias, pelo fato do mesmo talvez não permanecer na planta por período prolongado. Ressalta-se que destes trabalhos (DEBONA et al., 2009; MORAES et al., 2009; BARROS, 2011), a maioria envolve culturas anuais, o que poder-se-ia ser diferente para uma cultura perene como do eucalipto, fato não comprovado nestes experimento.

Após a pulverização de tais indutores é esperado aumento nas taxas de proteínas da planta, uma vez que, podem desencadear para expressão genica de defesa, fato este obtido após aplicação de óleos de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora*, no qual apresentaram superioridade em relação a testemunha. Isso já permite demonstrar que o comportamento

metabólico da planta com aplicação de tais indutores já foi alterado. Contudo, observou-se aumento com superioridade estatística na atividade da enzima de defesa FAL, pelos dados obtidos para testemunha e, pelo uso de *M. alternifolia* e *C. sylvestris* (Tabela 10).

Tabela 10: Concentração de açúcares totais (mg.g tecido<sup>-1</sup>), proteínas (mg.g tecido<sup>-1</sup>), peroxidase (mg.g tecido<sup>-1</sup>), FAL (UAbs.µg prot.mL<sup>-1</sup>) e compostos fenólicos (mg.GAE.g-1), em de mudas de *E. benthamii* pulverizadas com os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* e avaliadas depois de três dias.

Tratamento	Açúcares Totais (mg.g tecido <sup>-1</sup> )	Proteínas (mg.g tecido <sup>-1</sup> )	Peroxidase (mg.g tecido <sup>-1</sup> )	FAL (UAbs.µg prot.mL <sup>-1</sup> )	Compostos fenólicos (mg.GAE.g-1)
Testemunha	4,047b	0,056b	43,448b	1,277a	499,349ns
<i>M. alternifolia</i>	7,344a	0,096a	52,551ab	0,512ab	513,786
<i>C. sylvestris</i>	4,926b	0,090a	58,107a	0,540ab	551,057
<i>E. uniflora</i>	7,918a	0,103a	63,389a	0,398b	528,302
CV %	22,46	17,34	10,54	10,43	6,60
<i>p</i>	0,0043	0,0041	0,0023	0,0122	0,2345

ns – não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro.

\*Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan a (<0,05).

Isso demonstra o efeito de indução à defesa, obtido pelos óleos de *M. alternifolia* e *C. sylvestris*, necessitando-se comprovar especificamente se esta expressão pode inibir a atividade do inseto *T. peregrinus* em viveiro. Campos et al., (2003) observaram que plantas de feijoeiro tratadas com ácido salicílico desencadearam a expressão FAL ativando rotas de defesa da planta. Lorencetti et al., (2015) também observaram que os produtos alternativos Rotenat CE<sup>®</sup> e Topneem<sup>®</sup> apresentaram tem ação comprovada como indutores de resistência em cotilédones de soja, expressando valores elevados da atividade da FAL.

Acredita-se que a resposta da superioridade com a FAL para testemunha pode ter sido em decorrência do menor valor de açúcares totais obtido, desencadeando provavelmente, estresse da planta pela falta de fotoassimilados, possibilitando através dessa enzima produzir compostos de defesa para sobrevivência do mesmo no ambiente.

A FAL é enzima que possibilita a expressão de vários compostos como lignina, flavonóides (antocianinas), fitoalexinas e o ácido salicílico (EMILIANI et al., 2009; VERMERRIS; NICHOLSON, 2006) sendo os compostos fenólicos responsáveis pela sobrevivência da planta em ambiente em condição de estresse, esse estresse, desencadeia a

transcrição do RNA mensageiro que codifica a FAL aumentado sua quantidade na planta, o que, estimula a síntese de compostos fenólicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005)

Como o aumento nos níveis de açúcares totais depois de três dias da pulverização dos óleos essenciais, que está diretamente envolvido no metabolismo primário vegetal, servindo-se de substrato para rotas do metabolismo secundário, que pode sustentar a produção de compostos fenólicos através da rota de dos fenilpropanóides, acredita-se que sua falta pode ter desencadeado para uma rota específica, nesse caso a FAL, causada pelo estresse interno.

Além disso, tem-se também como hipótese o fato da testemunha ter sido estimulada a continuar produzindo FAL pela possível produção de salicilatos voláteis liberados por plantas tratadas com os óleos essenciais próximos a ela, conforme condição experimental. Esses voláteis podem alcançar as plantas a longas distâncias da fonte emissora e agir nas respostas sistêmicas adquiridas dessas plantas de forma ativar as rotas de defesa químicas (HEIL; TON, 2008).

Observou-se pela aplicação dos óleos de *E. uniflora*, *M. alternifolia* e *C. sylvestris* obteve-se maiores médias para peroxidase, sendo a menor com testemunha (Tabela 10).

A peroxidase é uma enzima que está presente em microrganismos, plantas e animais e possui a finalidade de catalisar a oxirredução de hidrogênio e seus redutores. Nas plantas são observadas muitas peroxidases, no entanto algumas são induzidas durante o estresse causado por patógenos (HIRAGA et al., 2001). As peroxidases oxidam substratos orgânicos por meio da eliminação do peróxido de hidrogênio, espécie reativa de oxigênio e aceptora de elétrons.

Essas enzimas participam do crescimento e do desenvolvimento vegetais, da destoxificação celular e de mecanismos de defesa como cicatrização de ferimentos e oxidação de compostos fenólicos (BAYSAL et al., 2003), além de terem importante papel na polimerização final da lignina, oxidando as hidroxilas dos grupos fenólicos, aumentando o seu teor nos tecidos vegetais. As mudanças na atividade das peroxidases têm sido frequentemente correlacionadas com o potencial de contribuição na defesa das plantas (PASCHOLATI, 2011; PINTO et al., 2011; STANGARLIN et al., 2011).

Esse resultado não descarta a possibilidade de uso dos óleos de *E. uniflora* como indutor de defesa para mudas de eucalipto, uma vez que desencadeou aumento em uma das rotas de defesa.

Em geral, o óleo de *M. alternifolia* foi o que apresentou superioridade em todas as variáveis analisadas após três dias de sua aplicação (Tabela 10). Isso pode estar relacionado a possível superioridade obtida com o teor de açúcares totais obtido com este óleo, juntamente

com o de *E. uniflora*. A elevação dos teores de açúcares totais pode estar relacionada ao aumento da atividade metabólica das plantas induzidas, pois os ciclos metabólicos estão integrados e um processo de indução de compostos do metabolismo secundário pode afetar o metabolismo primário do carbono, como a glicólise, pentose fosfato ou ciclo do ácido cítrico (MAZARO, 2007).

Esses resultados estão de acordo com os reportados por TANG et al. (1996) com *Arabidopsis thaliana* (L. Heynh.) (erva-estrelada) em folhas infectadas pelo *Albugo candida* onde houve aumento na concentração de açúcares totais. Em plantas jovens de *Shizolobium amazonicum* (Huber ex Ducke) (paricá) e *S. parahyba* (Huber ex Ducke) (guapuruvu) submetidas a dois ciclos de deficiência hídrica constatou-se aumento dos teores de açúcares totais (CARVALHO, 2005). Diferentes situações de estresse, inclusive por ataque de patógenos, causam direta ou indiretamente acúmulo de açúcares totais (ROITSCH, 1999).

## CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* apresentaram efeito inseticida sobre *T. peregrinus* na fase adulta. O óleo essencial de *E. uniflora* apresentou efeito inseticida sobre adultos, ninfas de 3º ínstar e ovos de *T. peregrinus* mostrando-se seletivo ao parasitoide de ovos *C. noackae* quando aplicado pós-parasitismo (1dia).

Contudo, mesmo que o óleo essencial de *E. uniflora* tenha afetado alguns parâmetros biológicos de *C. noackae* em laboratório, o mesmo pode ser que não ocorra em campo, pois os produtos podem não entrar em contato direto com o ovo de *T. peregrinus*.

Os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* possuem potencial como indutores de mecanismos de defesa em mudas de *E. benthamii* após três dias de suas aplicações nas mesmas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia*, *Casearia sylvestris* e *Eugenia uniflora* apresentam toxicidade a *T. peregrinus*, destacando o óleo essencial de *E. uniflora* (0,75%) que causou mortalidade em adultos, ninfas de 3º ínstar e ovos de *T. peregrinus*. O mesmo óleo, quando testado sobre o parasitoide *C. noackae*, mostrou-se seletivo ao parasitoide quando aplicado pós-parasitismo (1dia).

Estes óleos essenciais, *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora*, também possuem potencial como indutores no mecanismo de defesa em *E. benthamii*, três dias depois de pulverizados. O óleo essencial de *E. uniflora* novamente apresenta destaque por provocar aumento nos açúcares totais, proteínas e peroxidase.

Dada à importância das plantas inseticidas, seja na forma de óleos essenciais ou visando à seleção de compostos específicos, novos trabalhos podem ser realizados. Novos bioensaios com os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* poderão ser realizados para testá-los em diferentes concentrações, diferentes tempos de tratamento e avaliação, avaliação sobre *T. peregrinus* a campo, avaliação de seletividade sobre outros organismos não-alvos, testes de repelência e toxicidade sobre outros insetos-praga. Além desses fatores, também pode-se avaliar estes óleos na indução de resistência sobre outras espécies de *Eucalyptus* e também em diferentes tempos de coleta do material para as análises bioquímicas, bem como estudos para identificar e isolar os compostos químicos que apresentam maior potencial inseticida dessas plantas.

**AGRADECIMENTOS**

Ao Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida à primeira autora e pelo fomento ao projeto (Processo 422269/2016-6).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AURICCHIO, Mariangela.; BACCHI, Elfried M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitangueira): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n.1, p. 55-61, 2003.

AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília: Ministério da Agricultura. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons!/ap\\_produto\\_form\\_detalhe\\_cons?p\\_id\\_produto\\_formulado\\_tecnico=8304&p\\_tipo\\_janela=NEW](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons!/ap_produto_form_detalhe_cons?p_id_produto_formulado_tecnico=8304&p_tipo_janela=NEW). Acesso em: 30 abr. 2017.

ALMEIDA, Semíramis P.; PROENÇA, Carolyn E. B.; SANO, Sueli M.; RIBEIRO, José F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA CPAC, p. 464, 1998.

ANDRADE, Lígia H.; OLIVEIRA, José V.; LIMA, Iracilda M.; SANTANA, Mauricéa F.; BREDÁ, Mariana O. Efeito repelente de azadiractina e óleos essenciais sobre *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em algodoeiro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 3, p. 628-634, 2013.

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE FLORESTAS PLANTADAS. Brasília, DF: ABRAF, 2013.

ANTONIOUS, George F.; KOCHHAR, Tejinder S. Zingiberene and curcumene in wild tomato. *Environ Science Health*, n. 38, p. 489-500, 2003.

ARRAES, Ronaldo A.; MARIANO, Francisca Z.; SIMONASSI, Andrei G. Causas do desmatamento no Brasil e seu ordenamento no contexto mundial. **Revista Economia Sociologia Rural**, v. 50, n. 1, p. 119-140, 2012.

BARBOSA, Leonardo R.; SANTOS, Franciele; WILCKEN, Carlos F.; SOLIMAN, Everton P. Registro de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) no Estado do Paraná. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, n. 61, p. 75-77, 2010.

BARBOSA Leonardo R, SANTOS, Franciele; BUHRER, Caroline B.; NICHELE, Leticia A, WILCKEN, Carlos F.; SOLIMAN, Everton P. Criação massal do percevejo-bronzeado, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera, Thaumastocoridae). **Pesquisa agropecuária brasileira**, Embrapa Brasília, DF, n. 1, p. 22, 2016.

BARROS, Ricardo. Estudo sobre a aplicação foliar de acibenzolar-s-metil para indução de resistência à ferrugem asiática em soja e cercosporiose em milho. **Arquivos do Instituto**

**Biológico**, v.78, n.4, p.519-528, 2011.

BAYSAL, Omir.; SOYLU, Soner.; SOYLU, Mine. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *Michiganensis*. **Plant Pathology**, v.52, p.747–753, 2003. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2003.00936.x.

BELTRAMIN, Fabiele S.; BARBOSA, Leonardo R.; RODRIGUES, Angelo P.; WILCKEN, Carlos F.; SOLIMAN, Everton P. Eficiência de chrysoperla externa (Neuroptera: Chrysopidae) na redução populacional de ninfas de *Thaumastocoris peregrinus* (hemiptera, thaumastocoridae). In: 13º SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO – SINCOBIOL. 2013. Bonito, Mato grosso do Sul. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/91654/1/2013-Leonardo-SICONBIOL-Eficiencia.pdf>. Acesso em 08 mar. 2017.

CARVALHO, C.J.R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* [*S. parahyba* var. *amazonicum*] e *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] à deficiência hídrica. **Revista Árvore** Viçosa, v. 29, n. 6, p. 907-914, 2005. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-)

BERTI FILHO, E.; CIOCIOLA, A. I. **Parasitóides ou predadores? Vantagens e desvantagens**. In: PARRA, J. R.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.

BIASI, L.A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda., 2009. 106p.

BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extratcts by thin-layer electrophoresis and chomatograghy. **Analitycal Biochemistry**, v.17, p.278-293, 1966.

Boeke SJ, Sinzogan, AAC, Almeida RP, Boer PWM, Jeong G, Kossou DK & Van Loom JJA (2003). Side-effects of cowpea treatment with botanical inseticides on two parasitoids of *Callosobruchus maculatus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 108: 43-51.

BOUVET, J.P.R.; VACCARO, N.C. Nueva especie de chinche, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) em plantaciones de eucalipto em el departamento Concordia, Entre Rios, Argentina. In: JORNADAS FORESTALES DE ENTRE RIOS, 15, 2007, Concordia, Entre Rios. Anais eletrônicos...Disponível em: <<http://www.inta.gov.ar/concordia/info/Forestales/contenido/pdf/2007/posters07/373.54.BOU.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2008.

BOVI, Thaís S. **Toxicidade de inseticidas para abelhas *Apis mellifera* L.** 2013. 69 f.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, Botucatu-SP, 2013.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BROGLIO-MICHELETTI, Sônia M. F.; SANTOS, Adriano J. N.; PEREIRA, Josean L. Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e Agrotecnologia**, n. 30, p. 1051-1055, 2006.

BRUN, Graziela R.; MOSSI, Altemir J. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Perspectiva**, 34, p. 135-142, 2010.

BUTTON, Gabriel. *Thaumastocoris peregrinus*. **Forest Facts**. 2 p. 2007. Disponível em: <http://www.nctforest.com/showpage.asp?id=44&contentid=423&catid=2>. Acesso em: 02 Jun. 2014.

CAMPOS, Ângelo D.; FERREIRA, Alfredo G.; HAMPE, Magdolna M. V.; ANTUNES, Irajá F.; BRANÇÃO, Nely B.; SILVEIRA, Expedito P.; SILVA, João B.; OSÓRIO, Vera A. Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.15, p.129-134, 2003.

CANSIAN, Rogério L.; MOSSI, Altemir J.; OLIVEIRA, Débora.; TONIAZZO, Geciane.; TREICHE, Helen; PAROUL, Natalia; ASTOLFI, Viviane; SERAFINI, Luciana A. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. Linaloolifera fujita). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 378-384, 2010.

CARPINTERO, Diego L.; DELLAPÉ, Pablo M. A new species of *Thaumastocoris* Kirkaldy from Argentina (Heteroptera: Thaumastocoridae: Thaumastocorinae). **Zootaxa**, n.1228, p. 61-68, 2006.

CARRILLO, Marcela P.; BOVI, Thaís S.; NEGRÃO, Adriana F.; ORSI, Ricardo O. Influência dos agroquímicos Fipronil e Imidaclopride no aprendizado de abelhas *Apis mellifera* L. **Animal Science**, v. 35, n. 4, p. 431-434, 2013.

CARSON, Christine F.; COOKSON, Bred D.; FARRELY, Helton D.; RILEY, Tina V. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, p. 421-424, 1995.

CARVALHO, Gabriel A.; SANTOS, Nilson M.; PEDROSO, Everton C.; TORRES, Adriana. F. Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve-manteiga *Brassica oleracea linnaeus* Var. Acephala. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 181-186, 2008.

CHITARRA, Maria I.; CHITARRA, Adimilson B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA 2005.

CIMANGA, Kyle.; KAMBU, Kongo.; TONA, Lia.; APERS, Sandra.; BRUYNE, Tom.; HERMANS, Ney.; TOTTE, Jean.; PIETERS, Lorel.; VLIETINCK, Aantonia J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79 n. 2, p. 213-20, 2002.

COITINHO, Rodrigo L.B.; Oliveira José V.; JUNIOR, Manoel G. C.; CAMARA, Augusto G. Toxidade por fumigação contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e agrotecnologia**, n. 35. P. 172-178, 2011.

CORREIA, Alicely A.; WANDERLEY, Texeira V.; TEIXEIRA, Alvaro A.C.; OLIVEIRA, José V.; GONCALVES, Gabriel G.A.; CAVALCANTI, Marília G.S.; RAYNER, Fábio A. ALVES, Luiz C. Microscopic analysis *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) embryonic development before and after treatment with azadirachtin, lufenuron, and deltamethrin. **Journal of Economic Entomology**, n. 106, p. 747-755, 2013.

COUTO, Erick F.; RILDO, S.B.; SUASSANA, Nelson D.; OLIVEIRA, Sonia M. Avaliação de indutores de resistência em algodoeiro a murcha de fusário: atividade enzimática e índice de infecção. **Tropical Plant Pathology**, v.34, p.352-356, 2009.

COWAN, Marjorie M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology. Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

DEBONA, Daniel.; FIGUEIRO, Gláucia G.; DALLA CORTE, Gerson.; NAVARINI, Lucas.; DOMINGUES, Lucas S.; BALARDIN, Ricardo S. Efeito do tratamento de sementes com fungicidas e acibenzolar-S-methyl no controle da ferrugem asiática e crescimento de plântulas em cultivares de soja. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v.35, n.1, p.26-31, 2009.

DEWICK, Paul M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. Chichester: John Wiley & Sons, 1997. 520 p.

DINIZ, Sergio P.; COELHO, José S.; ROSA, Gislaïne S.; SPECIAN, Vera.; OLIVEIRA, Ricardo C.; OLIVEIRA, Rosa R. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 4, p. 9-11, 2008.

DUBOIS, Michel.; GILLES, Kyle A.; HAMILTON, Jean K.; REBERS, P. A., SMITH, Fred Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analitycal Biochemistry**, v.28, p.350-356, 1956. Doi: 10.1021/ac60111a017.

ELAISSI, Ameer; ROUIS, Zyed; MABROUK, Samia; SALAH, Karima B. H.; AOUNI, Mahjoub.; KHOUJA, Mohamed L.; FARHAT, Farhat; CHEMLI, Rachid; SKHIRI, Fethia H. Correlation Between Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils from Fifteen Eucalyptus Species Growing in the Korbous and Jbel Abderrahman Arboreta (North East Tunisia). **Molecules**, v. 17, p. 3044-3057, 2012.

EMBRAPA. **Pragas de importância econômica**. 2010. Disponível em:<[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto\\_2ed/Pragas\\_Ordem\\_Coleoptera.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto_2ed/Pragas_Ordem_Coleoptera.htm)>. Acesso em: 28 ago. 2015.

EMILIANI, Giovani.; FONDI, Marco.; FANI, Renato.; GRIBALDO, Simonetta. A horizontal gene transfer at the origin of phenylpropanoid metabolism: a key adaptation of plants to land. **Biology Direct**, v.4, n.7, p.1-12, 2009. Doi: 10.1186/1745-6150-4-7.

FARIA, Alvaro B. C.; Revisando o processo de certificação florestal. **Revista Ambiência**. Guarapuava, PR v.5 n.1 p.145 - 153 Jan./Abr. 2009.

GABRIEL, Vagner A.; VASCONCELOS, André A.; LIMA, Elson F.; CASSOLA, Heloisa; BARRETTO, Klaus; BRITO, Mônica C. A importância das plantações de eucalipto na conservação da Biodiversidade. **Pesquisa florestal brasileira**, v. 33, n. 74, p. 203-213, 2013.

GACHKAR, Latif.; YADEGARI, Davood.; REZAEI, Mohammad B.; TAGHIZADEH, Masood.; Astaneh ShakibaA & Rasooli I (2007) Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. **Food Chemistry** 102:898-904.

GALLO, Domingos.; NAKANO, Octavio.; SILVEIRA NETO, Sinval.; CARVALHO, Ricardo P. L.; BAPTISTA, Gilberto C.; BERTI FILHO, Evoneo.; PARRA, José R. P.; ZUCCHI, Roberto A.; ALVES, Sérgio B.; VENDRAMIM, José D.; MARCHINI, Luis C.; LOPES, João R. S.; OMOTO, Celso. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GARCIA, André; FIGUEIREDO, Elisabete; VALENTE, Carlos; MONSERRAT, Victor J.;

BRANCO, Manuela. First record of *Thaumastocoris peregrinus* in Portugal and of the neotropical predator *Hemerobius bolivari* in Europe. **Bulletin of Insectology**, v. 66, n 2, p. 251-256, 2013.

GARLET, Juliana; COSTA, Ervandil C.; BOSCARDIN, Jardel; MACHADO, Dayanna N.; PEDRON, Leandra. Flutuação populacional de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) em plantio clonal de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* em Alegrete, RS, Brasil. **In: VII CONGRESSO DE MEIO AMBIENTE. LA PRATA**, Argentina, 2012. Anais eletrônicos... Disponível em [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/26684/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/26684/Documento_completo.pdf?sequence=1). Acesso em: 07 mar. 2017.

GEORGE, Edward P. J.; AMBROSE, Dunston P. Toxic effects of insecticides in the histomorphology of alimentary canal, testis and ovary in a reduviid *Rhynocoris kumarii* Ambrose and Livingstone (Hemiptera: Reduviidae). **Journal of Advanced Zoology**, n. 25, p. 46-50, 2004.

GOBBO, Leonardo.; LOPES, Noberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, n. 30, p. 374-381, 2009.

GONÇALVES-GERVÁSIO, Rita C. R.; VENDRAMIM, José D. Efeito de extratos de meliáceas sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, n. 33, p. 607-612, 2004.

GOVINDARAJAN, Mason. Bioefficacy of *Cassia fistula* Linn. (Leguminosae) leaf extract against chikungunya vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 13, n. 2, p. 99-103, 2009.

HASSE, Geraldo. **Eucalipto**: histórias de um imigrante vegetal. Porto Alegre: JA Editores, 2006. p.127.

HAMMER, Katherine A.; CARSON, Christine F.; RILEY, Thomas V. In vitro activities of ketoconazole, econazole, miconazole, and *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil against *Malassezia species*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, p. 467-469, 2000.

HEIL, Martin.; TON, Jurrian. Long-distance signalling in plant Defence. **Trends in Plant Science**, v.13, n.6, p. 264-272, 2008.

HIRAGA, S.; SASAKI, Katsutomo.; ITO, Hiroyuki.; OHASHI, Yuko.; MATSUI, Hirokazu. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, v.42, n.5, p.462-468, 2001.

HOLT, John A.; LEPAGE, Michel. Termites and soil properties. In: ABE, T.; BIGNELL, D.E.; HIGASHI, M. (Ed.). **Termites: evolution, sociality, symbiosis, ecology**, cap. 18, p. 389-407, 2000.

IBÁ. **Indústria brasileira de árvores**. Brasília, DF. IBÁ, p. 80, 2015.

IDE, Sandra; RUIZ, Cecilia; SANDOVAL, Ariel; VALENZUELA Juan. Deteccion de *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae) asociado a *Eucalyptus* spp. en Chile. **Bosque**, v. 32, p. 309-313, 2011.

JACOBS, Dener H.; NESER, S. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Heteroptera: Thaumastocoridae): a new insect arrival in South Africa, damaging to Eucalyptus trees. **South African Journal of Science**; v. 101, p. 233-236, 2005.

JOLY, Aython B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Companhia Nacional, 1987, 777p.

JENNINGS, Ana C. The determination of dihydroxy phenolic compounds in extracts of plant tissues. **Analytical Biochemistry**, v.118, p.396-398, 1991.

JUNG, Paulo H.; SILVEIRA, Ana C.; NIERI, Erick M.; POTRICH, Michele; LOZANO, Everton R.; REFATTI Margarida. Atividade Inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 191-196, 2013.

KNAAK, Neiva; FIUZA, Lidia M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, v.5, n. 2, p. 120-132, 2010.

KORBES, Daiane; SILVEIRA, Aron F.; HYPPOLITO, Miguel Â.; MUNARO, Gisiane. Alterações no sistema vestibulococlear decorrentes da exposição ao agrotóxico: revisão de literatura. **Sociedade brasileira de fonoaudiologia**, v. 15, n. 1, p. 146-152, 2010

LAZO, Maria L. S. R. **Caracterização e patogenicidade de fungos entomopatogênicos isolados do percevejo-bronzeado do Eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* (hemiptera: thaumastocoridae)**. 2012. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu- SP, 2012.

LEITE, Germano L. D.; CERQUEIRA, Vinícius M. Pragas do Eucalipto. Universidade Federal de Minas Gerais. **Instituto de Ciências Agrárias**, p. 8-25, 2013.

LIMA, Walter P. **Impacto ambiental do eucalipto**. São Paulo: Ed. USP, 1996.

LONDRES, Flavia. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. 1. ed. Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011, 190 p.

LORENCETTI, Grasielle A.T.; POTRICH, Michele; LOZANO, Everton R.; MAZARO, Sergio M.; BARBOSA, Leonardo R. Registro de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero e Dellapé na Região Sudoeste do Paraná. **Floresta Ambiente**, v. 22, n. 3, p. 434-436, 2012.

LORENCETTI Grasielle A.T. **Efeito de fungos entomopatogênicos e produtos naturais sobre *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) e indução de resistência em plantas**. 2013. 65f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco-PR, 2013.

LORENCETTI, Grasielle A.T. et al. Produtos Alternativos para Controle de *Thaumastocoris peregrinus* e Indução de Resistência em Plantas. **Floresta Ambient**, v.22, n.4, p.541-548, 2015. Doi: 10.1590/2179-8087.066913.

LORENZI, Harri.; MATOS, Francisco José de Abreu. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

MACHADO, Rodrigo T.; ROSALINO, Pedro.; RODRIGUES João.; JUNGES, Emanuele.; RIBEIRO, Leonardo P.; MANZONI, Carlos G. Avaliação da bioatividade de extratos vegetais sobre *Diabrotica speciosa* em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Agroecologia**, n. 2, p. 1461-1464, 2007.

MAIRESSE, Luiz A. S. **Avaliação da Bioatividade de Extratos de Espécies Vegetais, Enquanto Excipientes de Alelóquímicos**. 2005. 326f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria-RG, 2005.

MARTÍNEZ Gonzalo; BIANCHI Marta. First record in Uruguay of the bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellappé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae). **Agrociência**, v. 14, p. 15–18, 2010.

MASCARIN, Gabriel M., DUARTE, Vanessa S.; BRANDÃO, Marcelo M.; DELALIBERA, Ítalo. Natural occurrence of *Zoopththoradicans* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) on *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastodoridae) an invasive pest recently found in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.110, n. 3, p 401-404, 2012.

MATSUNO, Hiroshi.; URITANI, Ikuzo. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant & Cell Physiology**, v.23, p.1091-1101, 1972. Doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a074815.

MAZARO, Sergio M.; CITADIN, Idemir.; GOUVEA, Alfredo.; LUCKMANN, Daiane.; GUIMARÃES, Sabrina S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1824-1829, 2008.

MORAES, Jair C.; FERREIRA, Ronara S.; COSTA, Rosane R. Indutores de resistência à mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo (Genn., 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) em soja. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.5, p.1260-1264, 2009.

MORRIS, Philip. **Floresta de eucalipto para produção de madeira: uma alternativa para diversificação de renda na pequena propriedade rural.** Disponível em: [https://produtorphilipmorris.com.br/assets/uploads/2013%2002%2001%20Cartilha\\_producao\\_madeira\\_portugu%C3%AAs.pdf](https://produtorphilipmorris.com.br/assets/uploads/2013%2002%2001%20Cartilha_producao_madeira_portugu%C3%AAs.pdf). Acesso em: 03 fev. 2017.

MUTEIA, Hélder. **A importância das florestas para um mundo melhor.** FAO, Portugal, 2014. Disponível em: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/faoweb/lisbon/docs/O\\_Pa%C3%ADs\\_21\\_3\\_2014.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/faoweb/lisbon/docs/O_Pa%C3%ADs_21_3_2014.pdf). Acesso em: 03 fev. 2017.

NEVES, Rita C. S.; FERRAZ, Rosa H. S.; MENDONÇA, Adriana J.; LIMA, Samara R.; CRUZ, Felipe A. C. S.; ROSA, Jaqueline G.; MATEUS, Lúcia A. F.; FERRAZ, Vany.; BARROS, Luciano A. Efeito acaricida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* sobre *Otodectes cynotis*. **Revista brasileira Ciência e Veterinária**, n. 19, p. 144-148, 2012.

NOACK, Anne E.; COVIELLA, Carlos E. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Hemiptera: Thaumastocoridae): first record of this invasive pest of Eucalyptus in the Americas. **General & Applied Entomology**, v. 35, p. 2, 2006.

NOACK, Anne E.; KAAPRO, Jyri.; BARTIMOTE-AUFFLICK, Kathryn.; MANSFIELD, Sarah.; ROSE, Harley A. Efficacy of imidacloprid in the control of *Thaumastocoris peregrinus* on Eucalyptus scoparia in Sydney, Australia. **Arboriculture & Urban Forestry**, v. 35, n. 4, p.191-195, 2009.

PASCHOLATI, Sergio F. Fisiologia do Parasitismo: Como as Plantas se Defendem dos Patógenos. In: BERGAMIN FILHO, Armando.; KIMATI, Hiroshi; AMORIM, Leonardo. (Ed.). **Manual de Fitopatologia I: Princípios e Conceitos.** Agronômica Ceres, 2011. Cap.35. p.593-636.

PINTO, Marcio S.T.; RIBEIRO, Juliana M.; OLIVEIRA, Eduardo A.G. O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas. **Revista Brasileira de Biociências**, v.9, n.2, p. 241-248, 2011.

PEREIRA, Jaqueline M.; MELO, Anieli P. C.; FERNANDES, Paulo M.; SOLIMAN Everton P. Ocorrência de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v. 43, p.254-257, 2013.

PRATES, Hélio T.; SANTOS, Jamiltin P. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados. cap. 9.3: Armazenagem de grãos. Campinas (ed. By I Lorini, LH Miike & VM Senssel). **Instituto Bio Geneziz**, p. 443-461, 2002.

QUEIROZ, Luiz R.; BARRIQUELO, Luiz E. **O eucalipto: um século no Brasil**. São Paulo: Antônio Bellini Editora & Cultural, 2007. p.127.

QUIROZ, Eduardo J.; VANEGAS-RICO, Juan M.; MORALES-MARTÍNEZ, Oscar.; LOMELI-FLORES, Refugio.; RODRÍGUEZ-LEYVA, Esteban. First Record of the Bronze Bug, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae), in Mexico. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, n. 32, p. 35-39, 2016. DOI: 10.3954/1523-5475-32.1.35.

RAGURAN, Susan.; SINGH, Raphael P. Biological effects of neem (*Azadirachta indica*) seed on an egg parasitoid, *Trichogramma chilonis*. **Journal of Economic Entomology**, n. 92, p.1274-1280, 1999. DOI: 10.1093/jee/92.6.1274

RAMOS, Kely L.; ANDREANI, Roberto J.; KOZUSNY-ANDREANI, Dora I. Óleos essenciais e vegetais no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, n. 18, p. 605-612, 2017. DOI 10.1590/1983-084X/ 15\_192

ROEL, Antonia R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista. Internacional de desenvolvimento local**, v. 1, n. 2, p. 43-50, 2001.

RODRIGUES, Alice M.; DE PAULA, Jorge E.; DEGALLIER, Nicolas.; MOLEZ, Jean F.; ESPÍNDOLA, Eloisa S. Larvicidal activity of some Cerrado plant extracts against *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 2, p. 314-7, 2006.

RODRIGUES, Antonia A. C.; BEZERRA NETO, Egídio.; COELHO, Rildo S. B. indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, n. 31, p. 492-499, 2006.

ROITSCH, Thomas. Source-sink regulation by sugar and stress. **Current Opinion in Plant Biology**, v.2, p.198-206, 1999.

SÁ, Luiz A. N. Importation and exportation of natural enemies: how rocky is this Road in Brazil In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 23., 2010, Natal. **Anais...** Jaguariúna: EMBRAPA, 2010.

SAG. Servicio Agrícola y Ganadero, CL. **Instructivo cuarentena y masificación de *Cleruchoides noackae* Lin & Hubert (Hymenoptera: Mymaridae) parasitoide de huevos de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellape (Hemiptera: Thaumastocoridae).** Santiago, p. 66, v. 1.0, 2010.

SCAVONE, Olavio.; GRECCHI, Ricardo.; PANIZZA, Silvio. Guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz): aspectos botânicos da planta, ensaios fitoquímicos e propriedade cicatrizante da folha. **Anais...** São Paulo, Farmácia e Química, São Paulo, v. 19, n-1p.73-8, 1979.

SAVARIS, Marco A.; LAMPERT, Silvana.; PEREIRA, Paulo R. S.; SALVADORI, José R. Primeiro registro de *Thaumastocoris peregrinus* para o estado de Santa Catarina, e novas áreas de ocorrência para o Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1874-1876, 2011.

SILVA, Saulo L.; CHAAR, Jamal S.; DAMICO, Daniela C. S.; FIGUEIREDO, Patrícia M. S.; YANO Tomomasa. Antimicrobial activity of ethanol extract from leaves of *Casearia sylvestris*. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 5, p. 347-51, 2008.

SILVA, Francisco A. S.; AZEVEDO, Carlos A. V. Comparison of means of agricultural experimentation data through different tests using the software Assistat. **Journal of Agricultural Research**, n. 11, p. 3527-3531, 2016. Doi: 10.5897/AJAR2016.11523

SMITH, Cajuan J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**, v. 132, p. 1-45, 1996. Doi: 10.1111/j.1469-8137.1996.tb04506.x.

SIMÕES, Claudia M.; SPITZER, Vince. **Farmacognosia – da planta ao medicamento.** Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/ Florianópolis, UFRS/UFSC, 1999, 416p.

SOLIMAN, Everton P. **Bioecologia do percevejo-bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) em eucalipto e prospecção de inimigos naturais.** 2010. 80f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio

De Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu-SP, 2010.

SOPOW, Stephanie.; GEORGE, Sherly.; WARD, Nicholas. Bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus*: a new Eucalyptus pest in New Zeland. **Surveillance**, v. 39, n. 2, 43-46, 2012.

SOUZA, Tacyany F. FAVERO, Sílvio. Avaliação de óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) no controle de Pentatomidae. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 1, p. 216-222, 2015.

STANGARLIN, José R.; KUHN, Osvaldo J.; TOLEDO, Marcelo V.; PORTZ, Renato L.; SCHWAN-ESTRADA, Kevin R. F.; PASCHOLATI, Sérgio F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n.1, p.18-46, 2011.

TANG, Xang.; ROLEE, Simon A.; SCHOLES, Swart. D. The effect of *Albugo Candida* (white blister rust) on the photosynthetic and carbohydrate metabolism of leaves of *Arabidopsis thaliana*. **Plant, Cell and Environment**, v. 19, p. 967-975, 1996. Doi: 10.1111/j.1365-3040.1996.tb00461.x.

TOME, Hudson V.; MARTINS, Gustavo F.; LIMA, Maria A.; CAMPOS, Lúcio A.; GUEDES, Raul N. Imidacloprid-Induced Impairment of Mushroom Bodies and Behavior of the Native Stingless Bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **Journals Plos**. v. 7, 2012.

TORRES, Adalci L.; BARROS, Reginaldo.; OLIVEIRA, José V. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, n. 30, p. 151-156, 2011. Doi: 10.1590/S1519-566X2001000100022.

TORRES, Sandra M, CRUZ, Nadine L.; ROLIM, VP, CAVALCANTI, Maria.; ALVES, Leucio C.; SILVA, Valdemiro A. Mortalidade acumulativa de larvas de *Aedes aegypti* tratadas com compostos. **Revista Saúde Pública**, v. 48, n. 3, p. 445-450, 2014. DOI: 8:445-450 DOI:10.1590/S0034-8910.2014048005022.

VALERIANO, Caroline I; PICCOLI, Rita H.; CARDOSO, Marta G.; ALVES, Elen. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista brasileira plantas medicinais**, v.14, n.1, 2012.

VENZON, Madeleine.; JÚNIOR, Trazilbo José P.; PALLINI, Angelo. **Controle alternativo de pragas e doenças**: Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. Viçosa, Epamig, 2010.

VERMERRIS, Wilfred.; NICHOLSON, Ralph. **Phenolic compound biochemistry**. Dordrecht: Springer, 2006. 285p.

VIEIRA, Tatiana; BARBOSA, Luiz; MALTHA, Célia; PAULA, Vanderlúcia; EVANDRO, Nascimento. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, v.27, n.4, p.536-9, 2004.

VITAL, Marcos H. F. Impacto Ambiental de Florestas de Eucalipto. **Revista do BNDES**, Rio de Janeiro, V. 14, n. 28, p. 235-276, 2007.

WILCKEN, Carlos F.; NOGUEIRA DE SÁ, Luiz Alexandre.; BERTI FILHO, Evoneo.; FERREIRA FILHO, Pedro José.; OLIVEIRA, Nádia Cristina.; DAL POGETTO, Mario Henrique.; SOLIMAN, Everton Pires. Plagas exóticas de importância em *Eucalyptus* em Brasil. XXIII Jornadas Forestales de Entre Rios, Anais... Concordia: INTA, p. 5, 2008.

WILCKEN, Carlos F.; SOLIMAN, Everton P.; NOGUEIRA DE SÁ, Luiz A.; BARBOSA, Leonardo R.; DIAS, Thaíse K. R.; FERREIRA-FILHO, Pedro J.; OLIVEIRA, Ricardo J. R. Bronze bug *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on *Eucalyptus* in Brazil and its distribution. *Journal of Plant Protection Research*. v. 50, n. 2, p.1-2, 2010.

WILCKEN, Carlos F.; COUTO, Eduardo B.; ORLATO, Cassiano; FERREIRA, Pedro J.; Ocorrência do psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) (Hemiptera: Psyllidae) em florestas de eucalipto no Brasil. **Circular técnica**, 201, Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, n. 20, p. 01-11, 2003.

WILCKEN, Carlos F.; NOGUEIRA DE SÁ, Luiz Alexandre.; BERTI FILHO, Evoneo.; FERREIRA FILHO, Pedro José.; OLIVEIRA, Nádia Cristina.; DAL POGETTO, Mario Henrique.; SOLIMAN, Everton Pires. Plagas exóticas de importância em *Eucalyptus* em Brasil. XXIII Jornadas Forestales de Entre Rios, **Anais...** Concordia: INTA, p. 5, 2008.

WILCKEN, Carlos F.; BARBOSA, Leonardo R.; SA, Luiz A. N. de; SOLIMAN, Everton P.; LIMA, Alexandre C. V.; ZANUNCIO, José C. O percevejo-bronzeado *Thaumastocoris peregrinus*: uma ameaça à eucaliptocultura mundial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 24., 2012, Curitiba. Anais eletrônicos...Curitiba: SEB: UFPR, 2012. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/957603/1/RASaLANXXIVCBE201210661.pdf>. Acesso em: 07 mar. 2017.

## APÊNDICE A

Tabela 1: Análise de variância (ANOVA) açúcares totais (mg.g tecido<sup>-1</sup>), proteínas (mg.g tecido<sup>-1</sup>), peroxidase (mg.g tecido<sup>-1</sup>), FAL (UAbs.µg prot.mL<sup>-1</sup>) e compostos fenólicos (mg.GAE.g-1) em de mudas de *E. benthamii* pulverizadas com os óleos essenciais de *M. alternifolia*, *C. sylvestris* e *E. uniflora* e avaliadas depois de 30 dias e três dias.

	Tratamento (30 dias)					Tratamento (3 dias)					
	GL	SQ	QM	F	P	GL	SQ	QM	F	P	
<b>Açúcares Totais (mg.g tecido<sup>-1</sup>)</b>											
<b>Tratamento</b>	3	11,6554	3,8851	2,3498	0,123	Tratamento	3	41,7483	13,9161	7,5076	0,004
<b>Resíduo</b>	12	19,8412	1,6534			Resíduo	12	22,2432	1,8536		
<b>Totais</b>	15	31,4967				<b>Totais</b>	15	63,9915			
<b>Proteínas (mg.g tecido<sup>-1</sup>)</b>											
<b>Tratamento</b>	3	0,0016	0,0005	0,9571	0,440	Tratamento	3	0,0051	0,0017	7,6019	0,004
<b>Resíduo</b>	12	0,007	0,0005			Resíduo	12	0,0027	0,0002		
<b>Totais</b>	15	0,0087				<b>Totais</b>	15	0,0078			
<b>Peroxidase (mg.g tecido<sup>-1</sup>)</b>											
<b>Tratamento</b>	3	33,0991	11,0330	0,7250	0,587	Tratamento	3	871,6613	290,5537	8,8322	0,002
<b>Resíduo</b>	12	182,6145	15,2178			Resíduo	12	394,7672	32,89726		
<b>Totais</b>	15	215,7137				<b>Totais</b>	15	1266,4286			
<b>FAL (UAbs.mg<sup>-1</sup> de proteína.mL<sup>-1</sup>)</b>											
<b>Tratamento</b>	3	0,0246	0,0082	0,9018	0,476	Tratamento	3	0,5950	0,1983	5,6017	0,012
<b>Resíduo</b>	12	0,1095	0,0091			Resíduo	12	0,4249	0,0354		
<b>Totais</b>	15	0,1342				<b>Totais</b>	15	1,0199			
<b>Compostos fenólicos (mg.GAE.g-1)</b>											
<b>Tratamento</b>	3	33,4441	11,1480	2,0389	0,162	Tratamento	3	5838,1927	1946,0642	1,6298	0,234
<b>Resíduo</b>	12	65,6116	5,4676			Resíduo	12	14328,4541	1194,0378		
<b>Totais</b>	15	99,0557				<b>Totais</b>	15	20166,6469			