

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *SCRITO SENSU* EM
AGROQUÍMICA

TEMPO DE SECAGEM, ÉPOCA DE COLETA E AÇÃO
ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE
GOIABEIRA

Autora: Elizabeth Aparecida Josefi da Silva
Orientadora: Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves

Rio Verde – GO
Fevereiro – 2015

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *SCRITO SENSU* EM
AGROQUÍMICA

TEMPO DE SECAGEM, ÉPOCA DE COLETA E AÇÃO
ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE
GOIABEIRA

Autor: Elizabeth Aparecida Josefi da Silva
Orientadora: Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves
Coorientador: Dr. Edson Luiz Souchie

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Agroquímica.

Rio Verde – GO
Fevereiro – 2015

S586t Silva, Elizabeth Aparecida Josefi da
Tempo de secagem, época de coleta e ação antifúngica do
óleo essencial das folhas de goiabeira / Elizabeth Aparecida
Josefi da Silva. – Rio Verde. – 2015.
109 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano –
Campus Rio Verde, 2015.

Orientador (a): Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves

Bibliografia

1. Psidium guajava. 2. Sazonalidade. 3. Fungicida. I. Título
II. Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde.

668.651

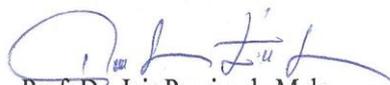
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

TEMPO DE SECAGEM, ÉPOCA DE COLETA E AÇÃO
ANTIFÚGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE
GOIABEIRA.

Autora: Elizabeth Aparecida Josefi da Silva
Orientadora: Cassia Cristina Fernandes Alves

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de concentração
Agroquímica.

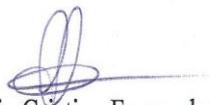
APROVADA em 27 de fevereiro de 2015.



Prof. Dr. Jair Pereira de Melo
Junior
Avaliador externo
UniRV



Prof. Dr. José Milton Alves
Avaliador interno
IF Goiano/RV



Prof.ª Dr.ª Cassia Cristina Fernandes Alves
Presidente da banca
IF Goiano/RV

A Deus, pelas bênçãos concedidas:

Aos meus pais Fernando e Nelci, por todo amor e dedicação:

Ao meu irmão Gustavo, por tudo que significa para mim:

Ao meu namorado Ernany, pelo amor, paciência e compreensão nos momentos de ausência,

Com Amor,

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente, a Deus, por estar comigo em todos os momentos de minha vida.

À minha família, irmão e queridos pais que me incentivaram e apoiaram nos momentos difíceis e me orientaram e apoiaram meus estudos.

Ao meu namorado Ernany, por me apoiar e incentivar e ajudar em alguns experimentos com todo carinho e amor.

À minha querida orientadora e professora, Dr^a. Cassia Cristina Fernandes Alves, que sempre acreditou em minha capacidade intelectual, confiou em meu potencial para ingressar na pesquisa e muito me ensinou com dedicação e sabedoria e principalmente pela sua eterna amizade.

Ao professor Dr. Edson Luiz Souchie, pela orientação em meu projeto e disponibilização de seu laboratório para realização de meus experimentos e pelos ensinamentos e colaboração.

Ao professor Dr. José Milton Alves, pela paciência, ensinamentos e colaboração.

À professora Dr^a. Ednalva Patrícia de Andrade Silva, pela colaboração em doar o fungo mofo branco para realização de experimentos.

Ao professor Dr. Márcio Fernandes Peixoto, pela colaboração e ensinamentos.

À aluna de Doutorado Isabel Cristina Mendonça Cardoso Jakoby, pela imensa paciência e colaboração nos experimentos com os fungos.

À Vanessa, Núbia, Rita, Ana Cláudia, pela imensa colaboração na coleta das folhas para extração do óleo essencial.

À Vanessa, pela colaboração na realização da secagem do material vegetal e extração de óleo essencial, e pela sua amizade.

À Jéssica, pela colaboração e amizade.

Ao professor Dr. Luiz Cláudio Barbosa e ao técnico José Luiz, do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), no Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, que muito contribuíram com as análises cromatográficas, serei sempre muito grata!

Aos meus colegas do Laboratório de Química de Produtos Naturais, Juliana, Marcelo e Nargella e todos os demais que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

Aos meus colegas de Mestrado, Rita, Núbia, Waleska, Amaury, Eduardo, Andreza, Marília, Silvânia, e a todos os colegas da Pós-Graduação pelos momentos compartilhados nessa jornada.

À minha aluna de iniciação científica, Vanessa, pela importante colaboração e grande apoio neste trabalho.

A todos os professores da Pós-Graduação em Agroquímica, cujas disciplinas contribuíram para realização desta pesquisa através de inúmeras leituras, discussões e trabalhos, recebam minha admiração, respeito e meu muito obrigado.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos, providencial para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Embrapa Arroz e Feijão, pela doação do isolado do mofo branco para realização desta pesquisa.

Ao programa de Pós-Graduação em Agroquímica e ao Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia Goiano, pela oportunidade de aprimoramento profissional, intelectual e pessoal.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para mais uma etapa de minha vida.

Obrigada!

BIOGRAFIA DO AUTOR

ELIZABETH APARECIDA JOSEFI DA SILVA, filha de Fernando Carlos da Silva e Nelci Maria Josefi, nasceu no dia 18 de novembro de 1988, na cidade de Uruará, Pará. Em dezembro de 2005, concluiu o ensino médio no Colégio Metropolitano em Goiânia. Em 2006, iniciou o curso técnico em alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO, concluindo em 2007. Gradou-se em 2012 em Licenciatura e Bacharelado em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO. Em março de 2013, iniciou o Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO – área de concentração Agroquímica, sob orientação da professora Dr.^a Cassia Cristina Fernandes Alves.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	xi
ÍNDICES DE FIGURAS	xii
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES	xv
RESUMO.....	xxi
1. INTRODUÇÃO	23
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	27
2.1. Óleos essenciais	27
2.2. Secagem de plantas produtoras de óleo essencial.....	29
2.3. A família <i>Myrtaceae</i> e o gênero <i>Psidium</i>	33
2.4. Óleos essenciais da família <i>Myrtaceae</i> como inseticidas naturais	37
2.5. Mofo branco (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>).....	39
3. OBJETIVOS	45
4. MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1. Local de coleta e identificação do material vegetal.....	46
4.2. Coleta e obtenção das amostras	46
4.3. Secagem das folhas de <i>Psidium guajava</i>	47
4.4. Extração do óleo essencial.....	47
4.5. Análise química do óleo essencial	48
4.6. Ensaio biológico	49
4.7. Análise estatística.....	50

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1. Teor de óleo essencial das folhas de <i>Psidium guajava</i> L. coletadas em duas épocas do ano.....	51
5.2. Composição química do óleo essencial das folhas de <i>Psidium guajava</i> L.....	58
5.3. Exemplos de identificação dos constituintes majoritários do óleo essencial das folhas de <i>Psidium guajava</i> L.	69
5.4. Atividade do óleo essencial das folhas de <i>Psidium guajava</i> L. sobre o fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	84
6. CONCLUSÃO	89
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Valores da temperatura do ar (°C), umidade relativa (%) e precipitação pluviométrica diária (mm) durante o processo de secagem na época das chuvas (jan/14) e da seca (jul/14) nas condições climáticas de Rio Verde-GO.....	52
Tabela 2 – Constituintes do óleo essencial de folhas de goiabeira (<i>Psidium guajava</i>) submetidas a secagem em estufa colhidas na época da chuvasjan/14.....	60
Tabela 3 – Constituintes do óleo essencial de folhas de goiabeira (<i>Psidium guajava</i>) submetidas a secagem à sombra colhidas na época da chuvas jan/14.....	61
Tabela 4 – Constituintes químicos diferentes identificados nas folhas de goiabeira submetidas a diferentes métodos de secagem na época das chuvas.....	62
Tabela 5 – Constituintes do óleo essencial de folhas de goiabeira (<i>Psidium guajava</i>) submetidas à secagem em estufa colhidas na época da seca julh/14.....	63
Tabela 6 – Constituintes do óleo essencial de folhas de goiabeira (<i>Psidium guajava</i>) submetidas a secagem à sombra colhidas na época da seca julho/14.....	64
Tabela 7 – Constituintes químicos diferentes identificados nas folhas de goiabeira submetidas aos diferentes métodos de secagem na época da seca.....	65
Tabela 8 – Aumento e redução da concentração dos compostos majoritários dos óleos essenciais extraídos de folhas de goiabeira submetidas aos métodos de	67

secagem na época das chuvas.....	
Tabela 9 – Aumento e redução da concentração dos compostos majoritários dos óleos essenciais extraídos de folhas de goiabeira submetidas aos métodos de secagem na época da seca.....	67
Tabela 10 – Compostos majoritários encontrados na composição química do óleo essencial das folhas de goiabeira coletadas na época das chuvas e da seca.....	69
Tabela 11: Compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de goiabeira <i>in natura</i> coletadas na época das chuvas.....	70
Tabela 12: Compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de goiabeira <i>in natura</i> coletadas na época da seca.....	79
Tabela 13 – Comparação dos compostos majoritários da composição química do óleo essencial das folhas de <i>P. guajava in natura</i> na época das chuvas e da seca, com os compostos majoritários encontrados na literatura (CRAVEIRO et al., 1981; PINO et al., 2001; LIMA, 2006).....	84

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Caracteres morfológicos de <i>Psidium guajava</i> L. Hábito subarbustivo (A) e arbustivo (B); flores isoladas (C) ou em unidades dicasiais (D); botão parcialmente fechado (E), bem como com rompimento irregular do cálice (F); frutos carnosos (G); sementes com testa óssea (H).....	34
Figura 2 – Espécie <i>Psidium guajava</i> L. (A) Fruto; (B) Planta; (C) Flor; (D) Parte interna do fruto; (E) Caule (KUHN, 2010).....	35
Figura 3 – Sintomas e sinais de mofo-branco em hastes de soja, causados por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (BRUSTOLIN et al., 2012).....	40
Figura 4 – Escleródios formados na medula da soja (BRUSTOLIN et al., 2012)...	41
Figura 5 – Massa miceliana e formação de escleródios de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , na superfície da haste (a) e na medula (b) (BRUSTOLIN et al., 2012).....	41
Figura 6 – Ciclo do mofo branco causado por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em soja (BRUSTOLIN et al., 2012).....	42
Figura 7 – a) Massa de folhas de goiabeira coletadas na época das chuvas em janeiro de 2014 submetidas a secagem à sombra e em estufa. b) Massa de folhas de goiabeira coletadas na época da seca em julho de 2014 submetidas a secagem à sombra e em estufa.....	51
Figura 8 – Teor de óleo essencial das folhas de goiabeira submetidas a processo de secagem à sombra e secagem artificial. a) Época das chuvas janeiro de 2014; b) Época da seca julho de 2014. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....	53

Figura 9 – a) Médias dos teores de óleo essencial (%) de <i>Psidium guajava</i> Lin. submetidas a secagem em estufa na época das chuvas e da seca; b) Médias dos teores de óleo essencial (%) de <i>Psidium guajava</i> Lin. submetidas a secagem natural à sombra coletadas na época das chuvas e da seca. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....	55
Figura 10 – Estrutura química dos compostos majoritários identificados no óleo essencial de folhas de goiabeira extraídos na época das chuvas e da seca.....	59
Figura 11 – Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira <i>in natura</i> coletadas na época das chuvas.....	70
Figura 12 – Estrutura química do trans-cariofileno.....	71
Figura 13 – A)Espectro de massas para o tempo de retenção de 31,715 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do trans-cariofileno.....	71
Figura 14 – Estrutura química do α -humuleno.....	72
Figura 15 – A)Espectro de massas para o tempo de retenção de 33,236 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do α -humuleno.....	72
Figura 16 – Estrutura química do aromadendreno.....	73
Figura 17 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 34,555 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do aromadendreno.....	73
Figura 18 – Estrutura química do α -selineno.....	74
Figura 19 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 34,946 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do α -selineno	74
Figura 20 – Estrutura química do selin-11-en-4-ol.....	75
Figura 21 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 41,443 minutos; B) Espectro de masas da biblioteca eletrônica do selin-11-en-4-ol.....	75
Figura 22 – Estrutura química do limoneno.....	76
Figura 23 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 13,193 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do limoneno.....	76
Figura 24 – Fragmentação que resulta no pico-base do limoneno.....	76
Figura 25 – Fragmentação do limoneno levando a formação do fragmento m/z 93.	77
Figura 26 – Estrutura química do óxido de cariofileno.....	77
Figura 27 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 38,525 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do óxido de cariofileno.....	78

Figura 28 – Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira <i>in natura</i> coletadas na época da seca.....	79
Figura 29 – Estrutura química do β -selineno.....	80
Figura 30 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 34,383 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do β -selineno	80
Figura 31 – Estrutura química do epóxido de isoaromadendreno.....	81
Figura 32 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 40,108 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do epóxido de isoaromadendreno...	81
Figura 33 – Estrutura química do trans-nerolidol.....	82
Figura 34 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 37,653 minutos; B) Espectro de massa da biblioteca eletrônica do trans-nerolidol.....	82
Figura 35 – Fragmentação do trans-nerolidol, levando a formação dos fragmentos m/z 69.....	82
Figura 36 – Fragmentação do trans-nerolidol, levando a formação dos fragmentos m/z 93.....	83
Figura 37 – Percentual de inibição micelial do óleo essencial das folhas de goiabeira extraídos na época das chuvas sobre o fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	85
Figura 38 – Percentual de inibição micelial do óleo essencial das folhas de goiabeira extraído na época da seca sobre o fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	86

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

°C	Grau Celsius	Temperatura
%	Porcentagem	Percentual
µL	Microlitro	Volume
m	Metro	Comprimento
Cm	Centrímetro	Comprimento
µm	Micrômetro	Comprimento
mL	Mililitro	Volume
g	Gramas	Massa
Kg.....	Kilogramas	Massa
b.u.....	Base úmida	Umidade
C.V	Coeficiente de variância	Estatística
CG	Cromatografia gasosa	Análise
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas	
CG-DIC	Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chammas	
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano	Solvente

CO ₂	Dióxido de carbono	Gás
C-C.....	Carbono- carbono	Ligação
h.....	Horas	Tempo
m/v.....	Massa/volume	Medida
eV	Eletronvolt	Energia
He	Hélio	Gás
IK	Índice de Kovats	Identificação
kPa.....	Quilopascal	Pressão
m s ⁻¹	Metro por segundo	Tempo
m/z.....	Massa/carga	Energia
m ³	Metro cúbico	Volume
mg	Miligrama	Massa
min	Minuto	Tempo
mL.min ⁻¹	Mililitro por minuto	Vazão
T.....	Temperatura	Temperatura
mm.....	Milímetro	Comprimento
PIC.....	Percentual de inibição de crescimento	
BDA.....	Batata dextrose ágar	
UR.....	Umidade relativa	
Tr.....	Tempo de retenção	
Jan.....	Janeiro	
Jul.....	Julho	
<i>P. guajava</i>	<i>Psidium guajava</i>	
<i>S. sclerotiorum</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	

Ss BRM 29673, 29870.....	Código do fungo
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. Krusei</i>	<i>Candida kusei</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. anatum</i>	<i>Staphylococcus anatum</i>
GO, BA, MG, MS, MT.....	Goiás, Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso do sul, Mato grosso
LASA.....	Laboratório de análise e síntese de agroquímicos
DEQ.....	Departamento de química
UFV	Universidade Federal de Viçosa
α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
γ	Gamma

RESUMO

DA SILVA, ELIZABETH APARECIDA JOSEFI. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO, fevereiro de 2015. **Época de coleta, tipo de secagem e ação antifúngica do óleo essencial das folhas de goiabeira.** Cassia Cristina Fernandes Alves “Orientadora”; Edson Luiz Souchie “Coorientador”.

Psidium guajava, popularmente conhecida como goiabeira, bem disseminada no cerrado brasileiro e muito utilizada na medicina popular. Suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, antifúngicas, inseticidas, etc, têm levado a estudos dos óleos essenciais presentes nesta planta. Sendo os óleos essenciais metabólitos especiais muito voláteis e diversos fatores podem afetar seu teor e composição química, como o processo de secagem, assim interferindo na ação do óleo essencial. O óleo essencial pode apresentar ação direta sobre fitopatógenos agrícolas, como o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, que é um patógeno de difícil erradicação e afeta culturas de grande importância econômica, e os estudos com óleos essenciais como alternativas naturais para o controle dessas pragas agrícolas vem se intensificando. Este trabalho teve como objetivo, avaliar a época de coleta, o tipo de secagem e a ação antifúngica do óleo essencial das folhas de goiabeira. Os métodos de secagem avaliados foram: folhas frescas, secagem natural e em estufa a 40°C de 0 a 16 dias. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação utilizando aparelho do tipo Clevenger e armazenado a 4°C até sua utilização. Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas, para a caracterização química. O ensaio microbiológico foi realizado em placas de petri contendo meio BDA, em que foram transferidas alíquotas de 0, 100, 200, e 300 µL de óleo essencial das folhas *in natura* de goiabeira com seis repetições,

posteriormente se transferiu uma alíquota de 8 mm do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* para cada placa, que foram colocadas em estufa a temperatura ambiente de 22°C e foram avaliadas após 48 horas de incubação e até o crescimento total das testemunhas. Foi utilizado como controle negativo apenas o fungo em meio BDA e como controle positivo o fungicida frowside na concentração de 10µg ml⁻¹. O processo de secagem interferiu no teor do óleo essencial das folhas de goiabeira, a secagem em estufa apresentou maior teor de óleo essencial na época das chuvas, enquanto na época da seca o teor não apresentou diferença estatística significativa entre os métodos de secagem avaliados. Foram identificados 7 compostos majoritários no óleo essencial extraídos das folhas *in natura* sendo em comum o trans-cariofileno, α-humuleno, α-selineno e selin-11-en-4α-ol em ambas as épocas. A composição diferiu pela presença de compostos específicos: limoneno, aromadendreno e óxido de cariofileno (época das chuvas) e o β-selineno, trans-nerolidol e o epóxido de isoaromadendreno (época da seca). O óleo essencial das folhas de goiabeira *in natura* apresentou inibição do fungo de 94,9% na época das chuvas e de 93,4% na época da seca, demonstrando assim potencial fungicida contra o mofo branco.

PALAVRAS-CHAVES: *Psidium guajava*, metabólitos especiais, sazonalidade, fungicida, secagem

ABSTRACT

DA SILVA, ELIZABETH APARECIDA JOSEFI. Goiano Federal Institute of Education, Science and Technology - Campus Rio Verde - GO, February 2015 **Time of collection, time of drying and antifungal action of the essential oil of guava leaves.** Cassia Cristina Fernandes Alves "Advisor"; Edson Luiz Souche "Co-advisor".

Psidium guajava is popularly known as guava also disseminated in the Brazilian cerrado and widely used in popular medicine. Its antimicrobial, antioxidant, antifungal, insecticides, etc., properties have led to studies of essential oils present in this plant. Being the essential oils special metabolites very volatile so many factors can affect its content and chemical composition, as the drying process, thus interfering with the essential oil action. The essential oil may have a direct effect on agricultural pathogens such as *Sclerotinia sclerotiorum* fungi, which is a pathogen difficult to eradicate and affects crops of great economic importance, and studies with essential oils as natural alternatives to control these agricultural pests has intensified. This study aimed to assess the collection time, the type of drying and antifungal activity of the essential oil of guava leaves. The evaluated drying methods were: fresh leaves, natural drying and in an oven at 40 °C from 0 to 16 days. The essential oil was extracted by hydrodistillation using a Clevenger type apparatus and stored at 4 °C until used. The essential oils were analyzed by gas chromatography coupled to a mass spectrometer for chemical characterization. The microbiological assay was performed in petri dishes containing PDA medium, where were transferred aliquots of 0, 100, 200, and 300 uL of essential oil from leaves of fresh guava with 6 repetitions. Later it was transferred an aliquot of

8mm of *Sclerotinia sclerotiorum* for each plate which were then placed in an oven at 22 °C and were evaluated after 48 h of incubation and until the total growth up of the the control test used as a negative control only the fungus on PDA medium and as a positive control in the frowside fungicide in the concentration of 10mg ml⁻¹. The drying process interfered with the essential oil content of guava leaves, drying in an oven showed higher essential oil content in the rainy season, while in the dry season the content was not statistical different between the evaluated drying methods. There were identified 7 major compounds in the essential oil extracted from fresh leaves being in common the trans-caryophyllene, α -humuleno α -selinene and selin-11-en-4 α -ol in both seasons. The composition differed due to the presence of specific compounds: limonene, aromadendrene and caryophyllene oxide (rainy season) and the β -selinene, trans-nerolidol and the epoxy isoaromadendreno (the dry season). The essential oil from leaves of guava in natura showed inhibition of 94.9% of fungus in the rainy season and 93.4% in the dry season, thus demonstrating potential fungicide against white mold.

KEY WORDS: *Psidium guajava*, special metabolites, seasonality, fungicide, drying

1. INTRODUÇÃO

Psidium guajava (L.) (Myrtaceae), vulgarmente conhecida como “goiabeira”, é uma planta nativa da América tropical, sendo um arbusto ou árvore esgalhada, pertencente à família Myrtaceae, podendo atingir entre 6 e 25 m de altura, recoberta por casca fina muito aderente e fruto globuloso, amarelado em geral, de 3 a 6 cm de diâmetro, amplamente distribuída no território nacional e bem adaptada. Diferentes partes desta planta são utilizadas na medicina popular para o tratamento de várias doenças, as cascas têm sido empregadas no tratamento de diarreia em crianças; as folhas são usadas para o alívio da tosse, distúrbios pulmonares, feridas e úlceras e o fruto utilizado como tônico, laxante e anti-helmíntico (LEEAA et al., 2012). Suas folhas apresentam taninos, triterpenoide, β -sitosterol e óleos essenciais que apresentam muito compostos sendo 1,8-cineol e o transcariofileno os mais frequentes (TAVARES, 2002; LEEAA et al., 2012). Estudos relatam que a goiabeira possui atividade antimicrobiana, antimutagênica, atividade hipoglicêmica e antioxidante dentre outras. Seus extratos têm mostrado atividade inibitória *in vitro* para diferentes microrganismos dentre eles bactérias e fungos como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, *Candida krusei* e *Aspergillus fumigatus*, etc, respectivamente (MENEZES, 2013).

Estudos realizados sobre caracterização do óleo essencial de folhas de goiabeira demonstraram que este apresenta na sua constituição importantes compostos com potencial inseticida como o 1,8-cineol, limoneno e o α -pineno (LIMA et al., 2009), por isso o óleo essencial extraído de folhas da goiabeira, e outras plantas medicinais, têm sido utilizado para estudos *in vitro*, de inibição micelial e esporulação de fungos fitopatogênicos (SCGWAN-ESTRADA, 2000). Existem diversas famílias que se destacam na produção de óleos essenciais e entre elas a família Myrtaceae. De maneira geral os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis produzidos

como metabólitos especiais pelas plantas, são lipofílicos, odoríferos e líquidos, com aparência oleosa à temperatura ambiente, sendo responsáveis pelo odor característico das plantas, interação patógeno-planta, entre outras funções. São dotados de aromas em sua maioria agradáveis e intensos, de sabores geralmente ácidos e picantes, apresentando incolores ou ligeiramente amarelados (SIMÕES et al., 2007). Os óleos essenciais produzidos pelas espécies aromáticas são utilizados como matéria-prima nas indústrias de alimentos como aromatizantes, em perfumes e produtos farmacêuticos. Possuem também importância na fabricação de produtos de higiene e limpeza e ainda na agricultura para controle biológico de pragas e doenças (SOUZA et al., 2010).

Alguns estudos têm mostrado que a secagem é um dos processos que mais tem influenciado o rendimento e a composição química do óleo essencial de plantas medicinais. A escolha do método de secagem deve ser criteriosa, pois os óleos essenciais são altamente voláteis, portanto a temperatura de secagem deve ser controlada e estudos sobre sua influência são necessários para obter condições de secagem adequadas para cada espécie, visando assegurar teores e composição adequados do óleo essencial. Embora algumas espécies possam ser secas naturalmente e com eficácia apenas à sombra, a secagem artificial se destaca cada vez mais por manter grande parte das propriedades da planta fresca. Além disso, neste processo há redução da atividade de água, ou seja, a redução da água disponível para o crescimento de microrganismos e as reações enzimáticas que podem alterar a composição do material vegetal, assim com a redução da atividade de água pode resultar em elevação dos teores dos compostos presentes no óleo essencial (CELESTINO et al., 2010).

No entanto, as pesquisas relacionadas ao processo de secagem são ainda insuficientes e cada vez mais se percebe a necessidade de estudos específicos para as espécies medicinais, uma vez que seus comportamentos frente ao processo de secagem têm sido muito peculiares. Pretende-se estabelecer melhores condições de secagem em função da espécie estudada e, conseqüentemente, da vulnerabilidade de seus constituintes químicos, bem como das estruturas armazenadoras (MACHADO et al., 2013; BORSATO, 2006; KHATER et al., 2011). Portanto, a escolha do melhor método de secagem e extração do óleo essencial visa aumentar o rendimento e diminuir perdas de princípios ativos, como por exemplo, os de ação inseticida, que atualmente têm sido estudados para o controle de pragas.

O Brasil é um dos maiores produtores de alimentos, algodão, celulose e biocombustíveis, sendo líder no mercado do agronegócio, mas também é o maior

consumidor mundial de agrotóxicos para o controle de pragas e doenças agrícolas (PIGNATI et al., 2014), entre as pragas de difícil combate no cenário agrícola, pode-se destacar o mofo branco, causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.), considerado um patógeno de importância mundial, por ocorrer tanto em regiões temperadas quanto subtropicais e tropicais, atacando culturas como da soja, girassol, salsa, dentre outras.

O Brasil é o segundo maior produtor, processador e exportador mundial da soja, destacando-se dentro do território nacional o Centro-Oeste como um dos maiores produtores desta oleaginosa (CONAB, 2015). Um grande problema para este cenário vem sendo as perdas na produção dessa cultivar, por causa das infestações pelo mofo branco, estima-se a presença do fungo em mais de seis milhões de hectares de soja no Brasil, gerando reduções de produtividade de até 60% (JULIATTI et al., 2013).

O mofo branco é um fungo de difícil erradicação depois de introduzido na área de cultivo, e não existe cultivares de soja resistentes ao mesmo (GORGEN et al., 2009; HENNEBERG, 2012) e, de acordo com dados da literatura, grande quantidade de fungicidas químicos é utilizado para combater tal fungo, sendo que muitos destes compostos são bastante nocivos ao homem e ao meio ambiente, primeiramente pela toxicidade desses defensivos, que podem permanecer durante anos no ambiente; segundo pela grande quantidade de agrotóxicos aplicados assim aumentando a quantidade de agroquímicos aplicados e conseqüentemente aumentando a poluição (PRIMEL et al., 2005; PIGNATI et al., 2014). Em contra partida, o controle das pragas agrícolas é extremamente necessário, pois elas estão entre as principais responsáveis pelos prejuízos na produção agrícola e pelo aumento do custo da produção.

Contudo, é de extrema importância a busca de meios alternativos no combate das pragas agrícolas, e a utilização de compostos bioativos botânicos como extratos e óleos essenciais com ação fungicida, torna-se uma alternativa para este fim de forma menos nociva ao meio ambiente e a saúde humana e por apresentar baixo custo aos pequenos produtores. Com base em relatos de que as plantas desenvolveram mecanismos de defesa contra fungo, bactérias e vírus, o interesse recente em pesquisa de fungicidas derivados de plantas tem sido implementado (BEATRIZ et al., 2012). Por outro lado, poucos estudos vêm sendo realizados sobre a ação de óleo essenciais no controle desta praga agrícola, o mofo branco. Demonstrando assim a importância de maiores estudos nesta área, como também a importância de se investigar a influência de

fatores abióticos, como a secagem, sobre os metabólitos especiais para que se possa obter um óleo essencial com potencial fungicida de boa qualidade e eficiência.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da secagem natural e artificial sobre o teor e a composição química do óleo essencial das folhas de *Psidium guajava* e avaliar seu potencial fungicida sobre *Sclerotinia Sclerotiorum*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Óleos essenciais

A partir do processo fotossintético as plantas sintetizam compostos químicos essenciais para seu desenvolvimento, podendo ser divididos em dois grandes grupos: os metabólitos primários (lipídeos, proteínas, carboidratos), essenciais para todos os seres vivos e com funções bem definidas e os metabólitos secundários ou especiais, compostos que apresentam geralmente estrutura muito complexa de baixo peso molecular, muitas vezes encontradas em baixíssimas concentrações e em distintos grupos de plantas (VON POSER & MENTZ, 2003; MATOS et al., 2012).

Os óleos essenciais produzidos pelas plantas atuam diretamente nos processos ecológicos, especialmente como inibidores da germinação, na autodefesa, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra a perda de água e no aumento da temperatura, entre outras (CRAVEIRO et al., 1986; HARBONE, 1993). Na variação na intensidade e na composição de acordo com a espécie e fatores ambientais, podem ser estocados em certos órgãos, tais como nas flores, folhas ou ainda nas cascas dos caules, madeira, raízes, rizomas, frutos ou sementes, em pelos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos, em bolsas lisígenas e tricomas (SIMÕES & SPITZER, 2004; CASTRO, 2004). Em geral são misturas muito complexas de substâncias voláteis lipofílicas geralmente odoríferas e líquidas a temperatura ambiente, altamente variadas de constituintes como hidrocarbonetos (terpenos e sesquiterpenos e compostos oxigenados (álcoois, éteres, aldeídos, cetonas, lactonas e fenóis) (NÉRIO et al., 2010; TOMAZONI et al., 2014). Os compostos terpênicos podem apresentar atividade inseticida, fungicida, bactericida, antimicrobiana, antiviral, entre outras, podendo ser utilizados para controle de pragas por meio de

aplicação direta do óleo essencial ou do princípio ativo isolado, ou servir como base para descoberta de novos produtos sintéticos de grande importância (CASTRO, 2004; PADUCH et al., 2007).

Os óleos essenciais podem ser extraídos de diversas partes da planta por diversos métodos de extração: maceração, expressão do pericarpo de frutos cítricos, euflerage, extração por solventes orgânicos, gases supercríticos (CO₂), micro-ondas e hidrodestilação por arraste a vapor, sendo este último o mais utilizado para sua obtenção em escala comercial (MORAIS, 2009; NAVARRETE et al., 2011). Além de serem estudados pelo seu potencial no controle de pragas e outros organismos, os óleos essenciais de plantas são fontes de substâncias para indústrias farmacêutica, química, alimentícia, de cosméticos, higiene e agricultura, seu uso vem ganhando impulso, tanto devido ao interesse crescente de consumidores em ingredientes de fontes naturais como também pela crescente preocupação com a utilização de substâncias potencialmente prejudiciais à saúde humana (REISCHE et al., 1998, BIZZO et al., 2009; NAVARRETE et al., 2011).

Para identificar os diversos metabólitos especiais presentes nos óleos essenciais, utiliza-se a cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG-MS), sendo que seus constituintes são definidos comparando com dados da literatura e comparação com o Índice de Kovats (ZHANG et al., 2010; ZHOU et al., 2011; GONG et al., 2014). Através desta técnica cromatográfica é possível identificar os componentes do óleo essencial. A atividade biológica pode estar relacionada com seus compostos majoritários e minoritários individualmente ou através de seu sinergismo. A relação entre os compostos químicos presentes nos óleos essenciais é muito complexa podendo afetar as características do óleo essencial, bem como sua ação biológica (JIANG et al., 2009).

Além disso, as diferenças na composição do óleo essencial e de sua atividade biológica podem ser por causa dos diferentes estágios de desenvolvimento ou variações nas condições de cultivo da planta, ou como resultado de modificações estruturais ou fisiológicas da planta causada por fatores ambientais específicos, causando alterações significativas em seu conteúdo (GONG et al., 2014). Em relação às particularidades do óleo, algumas pesquisas a respeito de sua composição mostram que mesmo variações genéticas intraespecíficas da espécie vegetal podem alterar o teor do princípio ativo presente no óleo (NASCIMENTO et al., 2007). Isso ocorre em razão das variações temporais e espaciais no conteúdo total, bem como as proporções relativas de

metabólitos secundários em diferentes níveis (sazonais e diárias; intraplanta, inter- e intraespecíficas) uma vez que os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante. Sendo portanto, sua síntese frequentemente afetada por condições ambientais (KUTCHAN, 2001; NETO & LOPES, 2007).

Os estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos. Dentre estes fatores, podem ressaltar as interações planta/ microrganismos, planta/ insetos e planta/ planta; idade e estágio de desenvolvimento, fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, radiação ultravioleta, poluição atmosférica, nutrição, sazonalidade, clima, solo, técnicas de colheita e pós-colheita, adubação, o uso de agrotóxicos, proveniência do material da planta (fresco ou seco), técnica utilizada na extração, fonte botânica, e altitude. É válido ressaltar que estes fatores podem apresentar correlações entre si, não atuando isoladamente, podendo exercer influência conjunta no metabolismo secundário (LIMA et al., 2003; NETO & LOPES, 2007; MORAIS, 2009).

Um grande número de plantas de várias espécies produtoras de óleo essencial vem sendo estudadas para avaliar a ação biológica dos óleos essenciais como um recurso natural para o controle de pragas e microrganismos (NÉRIO et al., 2010). Um grande exemplo disto é o crescente estudo sobre atividade fungicida dos óleos essenciais no controle de pragas agrícolas. Paralelamente vem crescendo os estudos relacionados às condições de se obter rendimento maior do óleo essencial e conseqüentemente o seu princípio ativo, como por exemplo, estudos sobre como as condições de secagem do material vegetal pode influenciar em seu teor e sua composição química.

2.2. Secagem de plantas produtoras de óleo essencial

Os teores e a composição química dos constituintes voláteis presentes nas plantas medicinais e aromáticas depende de vários fatores, como solo, clima e até mesmo o processamento pós-colheita que é dado ao material vegetal. Em relação ao processamento pós-colheita, o que mais interfere no teor desse princípio ativo é a secagem (CORRÊA et al., 2006). O processo de secagem das plantas produtoras de óleos essenciais visa a redução do teor de água do material vegetal, fazendo com que a atividade da água, ou seja, a água disponível para o desenvolvimento de

microrganismos e atividade enzimática dos produtos *in natura* diminua drasticamente assim minimizando a perda de princípios ativos e retardando a deterioração em decorrência da redução dessa atividade enzimática, isto permite o aumento do tempo de conservação e vida útil do produto, sendo que este processo deve ser realizado imediatamente após a colheita (VON HERTWIG, 1991; MARTINS, 2000; COSTA et al., 2005).

No entanto, a secagem de plantas que contenham óleos essenciais sempre envolve determinado nível de risco, a temperatura do ar de secagem pode variar entre 35 e 70°C dependendo da parte da planta e conhecimento sobre a substância de interesse (CORRÊA et al., 1994; FURLAN, 1998; ARRUDA et al., 2002; FIGUEIRA et al., 2003). Para plantas com substâncias voláteis, deve-se evitar temperaturas excessivas e efetuar a secagem ao abrigo do sol para evitar a degradação do princípio ativo, reduzindo tanto sua ação biológica como a quantidade e qualidade de seu óleo essencial, porque o processo de secagem pode afetar algumas plantas, principalmente as aromáticas que possuem compostos muito sensíveis a altas temperaturas e luminosidade (SIMÕES; SPITZER, 2004; ISENBERG & NOZAKI, 2011). A perda de princípio ativo em muitos casos não é evitada, mas cuidados no processo de secagem minimizam tal perda (MARCHESE & FIGUEIRA, 2005; OLIVEIRA, 2011)

A velocidade com que a água é retirada da planta medicinal, durante a secagem, é muito importante, porque o processo muito rápido pode degradar os princípios ativos, mas também não deve ser muito lenta, pois pode propiciar o aparecimento de microrganismos indesejáveis (SILVA & CASALI, 2005). Devido a isto, o controle de qualidade em relação à secagem deve ser realizado de modo a não comprometer os princípios ativos das drogas vegetais, uma vez que o alto teor de umidade residual acima de 10% base úmida favorece o desenvolvimento de fungos e bactérias, que possibilitam a atividade hidrolítica de diversas enzimas, as quais podem comprometer tais princípios (ROSADO et al., 2011).

Embora material seco apresente maior estabilidade química, por causa da interrupção de processos metabólicos que ocorrem mesmo após a coleta da planta, a utilização de material fresco se torna indispensável para a produção e detecção de alguns componentes específicos. Seu emprego traz a vantagem de evitar a presença de substâncias oriundas do metabolismo de fenecimento vegetal. Segundo DÔRES (2007), a secagem de plantas medicinais pode ser conduzida em condições ambientais ou artificialmente com uso de estufas, desumidificadores, secadoras, etc. O final dessa

etapa é percebido quando as plantas ficam quebradiças, sem perderem a coloração inicial, não ocorrendo desbotamento intenso dos tecidos vegetais.

Na secagem natural o processo é lento, e deve ser conduzido à sombra, em local ventilado, protegido de poeira e do ataque de insetos e outros animais, é recomendada em regiões de condições climáticas favoráveis, relacionadas principalmente à ventilação (ARRUDA, 2004). O processo de secagem artificial é fundamentado no aumento da capacidade do ar de retirar a umidade da planta. Assim, utilizam métodos que elevam a temperatura e promova a ventilação ou simplesmente reduza a umidade relativa do ar (ARRUDA, 2004). A temperatura de secagem é determinada pela sensibilidade dos princípios ativos da planta; portanto, para cada espécie, há a temperatura ideal de secagem. Com base nisso, alguns pesquisadores vêm estudando efeito de secagem sobre a qualidade e a quantidade de óleo essencial extraído de determinadas plantas medicinais e aromáticas.

Os primeiros trabalhos sobre secagem de plantas medicinais e aromáticas datam da década de 1970, quando GUENTHER (1972) estudando o capim-limão (*Cymbopogon citratus* DC. Stapf), concluiu que a secagem ao sol por um período de cinco dias consecutivos resultou em menor rendimento em óleo essencial, mas com maior teor relativo de citral. EL FATTAH et al. (1992), em trabalho com a mesma espécie, compararam a secagem ao sol com a secagem à sombra, avaliaram o rendimento em óleo e o seu teor em citral, comparando os valores obtidos com aqueles do produto fresco, concluíram que a secagem ao sol resultou em menores perdas em teor de citral e maior rendimento em óleo, contrariamente ao descrito por GUENTHER (1972).

MULLER & MUHLBAUER (1990) estudaram o efeito de duas temperaturas de secagem (30 e 50°C) no rendimento do óleo essencial de camomila (*Chamomilla recutita*). Apesar da redução do tempo de secagem de 52 para 3,5 horas para 30° e 50°C respectivamente, não foi observada redução significativa no teor de óleo essencial, sendo que se manteve na faixa de 15 a 25%, independentemente da temperatura de secagem empregada.

DEANS & SVOBODA (1992) com intuito de avaliar a influência da secagem sobre a quantidade e qualidade do óleo essencial de manjerona (*Origanum majorana* L.), manjeriço (*Ocimum basilicum*), artemísia (*Artemisia dracuncululus*), sálvia (*Salvia officinalis*), satureja (*Satureja hortensis*), tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*), empregaram temperaturas de secagem entre 40 e 100°C, por

24 horas. Concluíram que a quantidade extrativa de óleo essencial foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura do ar de secagem. A composição dos óleos essenciais de manjerona e manjeriço apresentou mudanças significativas com secagem a 80° C, e em artemísia, salvia e satureja esta alteração foi percebida com secagem entre 50 e 60°C, enquanto para o tomilho e o alecrim não foram observadas mudanças significativas na composição do óleo essencial.

A influência da temperatura de ar de secagem do capim limão (*Cymbopogon citratus*) no teor de óleo essencial e no conteúdo de citral, realizado em estufa a 30, 50, 70 e 90 °C, foi estudada por BUGGLE et al. (1999). Os melhores resultados obtidos pelos referidos autores, para o rendimento do óleo essencial, foram para secagem a 30°C (1,34%) e 50°C (1,43%). Entretanto, a secagem a 30°C favoreceu a proliferação de fungos. Para secagem às temperaturas de 70 e 90°C obteve-se o rendimento de óleo essencial de 1,19 e 1,06% m/v, respectivamente, demonstrando redução significativa no teor de óleo essencial, em relação aos outros tratamentos. O conteúdo de citral presente no óleo essencial obtido dos diferentes tratamentos não foi avaliado estatisticamente, mas os autores observaram pequenas variações, 95,2; 90,6; 91,8 de 94,6% para os tratamentos de secagem a 30, 50, 70 e 90 °C, respectivamente.

BLANCO (2000), avaliando a influência de três temperaturas de secagem em estufa com circulação forçada de ar na produção do óleo essencial de menta, verificou que nas secagens de 60 e 80°C não houve diferenças significativas no teor e composição do óleo; porém, o teor obtido em ambas foi 80% inferior ao obtido na secagem a 40°C.

ASEKUN et al. (2007) estudaram o efeito da secagem ao sol, temperatura ambiente e secagem em estufa a 40°C sobre a quantidade e qualidade química do óleo essencial das folhas de menta-silvestre (*Mentha longifolia*). Os autores observaram que o componente majoritário do óleo essencial, tanto na secagem com ar ambiente e secagem ao sol, foi a mentona (47,9% e 38,3%, respectivamente), enquanto a secagem em estufa (40 °C), tinha limoneno como o componente majoritário (40,8%). A pulegona foi o componente majoritário do óleo essencial de folhas *in natura* (testemunha). No óleo essencial extraído de folhas secas em estufa não foram identificados a mentona e o mentol. Segundo os autores, o óleo essencial sofreu transformação química significativa no grupo de monoterprenoide por causa da secagem das folhas. A secagem em estufa reduziu significativamente os teores de pulegona e mentona (potencialmente tóxicas), sendo este tratamento indicado pelos autores para esta espécie.

Ao avaliar a influência da temperatura de secagem sobre teor e composição química do óleo essencial de guaco (*Mikania glomerata* Spreng.) RADUNZ et al. (2010) utilizou seis tratamentos de secagem, secagem a temperatura ambiente e secagem em estufa a 40, 50, 60, 70 e 80°C. Como resultado os autores obtiveram os maiores teores de óleo essencial de guaco que foi obtido com secagem a 50°C e a identificação cromatográfica do óleo essencial apresentou mudanças na composição devido ao tratamento de secagem, quando comparada com a planta *in natura*.

SELLAMI et al. (2011) estudaram o efeito da secagem ao ar ambiente a 22°C, em estufa a 45 e 65°C, em micro-ondas (500W), e por infravermelho a 45 e 65°C sobre o teor e composição química do óleo essencial de folhas de louro (*Laurus nobilis* L.). Segundo os autores a secagem com temperatura ambiente e infravermelho a 45°C proporcionaram aumento significativo no teor do óleo essencial de louro, entretanto os principais constituintes químicos do óleo essencial dessa espécie (1,8-cineol, metil eugenol, terpinen-4-ol, linalol e eugenol) aumentaram apenas com a secagem a temperatura ambiente. Sendo assim, esse foi o método de secagem recomendado pelos autores.

Neste sentido, as condições, da matéria-prima a ser processada, irão depender de resultados de pesquisas fundamentadas no produto final que se quer obter (SIMOES et al., 2003; SILVA & CASALI, 2005). Por isso, a definição de metodologias de secagem mais apropriadas para cada espécie é necessária, visando a assegurar os teores de substâncias ativas (CORREA et al., 2004).

2.3 A família Myrtaceae e o gênero *Psidium*

Myrtaceae é uma família de plantas dicotiledôneas e composta por cerca de 130 gêneros e 3.800 espécies de árvores e arbustos que se distribuem por todos os continentes, à exceção da Antártica, mas com nítida predominância nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, principalmente na América e na Austrália (PINO et al., 2004; GRESSLER et al., 2006; CHALANNVAR et al., 2013; KHADHRI et al., 2014). No Brasil é representada por 26 gêneros e aproximadamente 1.000 espécie, sendo uma das famílias mais importantes e dominantes em várias formações vegetais brasileiras, especialmente na Floresta Atlântica (SOBRAL et al., 2015; BUNGER et al., 2012).

Os espécimes de Myrtaceae compreendem em plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, com folhas inteiras, de disposição alternada ou oposta e às vezes oposta

cruzada, com estípulas muito pequenas. Suas flores são em geral brancas ou às vezes vermelhas, efêmeras hermafroditas, de simetria radial e frutos geralmente do tipo globulosos (JOLY, 1997; ALVES et al., 2008). Encontram-se inseridos nesta família desde pequenos arbustos de não mais de 2 metros de altura até grandes árvores com mais de 6 metros.

Dentre os gêneros desta família, destaca-se o gênero *Psidium* que apresenta cerca de 150 espécies, e podem ser encontrados ao longo dos trópicos e subtropicais da América e da Austrália. As espécies do gênero *Psidium* podem ser caracterizadas por árvores e arbustos que possuem folhas simples, opostas, geralmente cruzadas, com típica venação broquidódroma; flores solitárias, axilares ou pequenos racemos, dicásio ou botrioides (geralmente com 1-3 flores); as flores são pentâmeras em que os botões maduros variam de a 15 milímetros; cálice possui morfologia variável, oscilando de cupuliforme até caliptrado, raramente apendiculado; as pétalas são livres e alternadas de cor branca ou creme, há muitos estames, ovário ínfero, com dois a cinco lóbulos (SOARES-SILVA & PROENÇA, 2008). Suas espécies apresentam numerosos estames com deiscência rimosa (longitudinal), portando cavidades secretoras no conectivo e lóculos multiovulados inseridos em uma placenta lamelar, originada a partir do dobramento dos bordos carpelares. Seus frutos são bacoides, com as sépalas persistentes ou raramente decíduas com o amadurecimento do fruto. Suas sementes possuem testa óssea e embrião mirtoide, com dois cotilédones muito pequenos e uma longa radícula encurvada (LANDRUM & SHARP, 1989; LANDRUM, 2003; COSTA, 2009). A Figura 1 ilustra algumas das características deste gênero.



Figura 1. Caracteres morfológicos de *Psidium*. Hábito subarborescente (A) e arbustivo (B); flores isoladas (C) ou em unidades dicásias (D); botão parcialmente fechado (E), bem

como com rompimento irregular do cálice (F); frutos carnosos (G); sementes com testa óssea (H). A – H retirados de COSTA (2009).

Psidium guajava L. (Figura 2), é a espécie pioneira mais importante pertencente ao gênero *Psidium*, e a família Myrtaceae, conhecida vulgarmente como goiabeira, é um arbusto ou árvore de pequeno porte, que em pomares adultos pode atingir de 3 a 6 metros de altura e com muitos ramos (KOLLER, 1979; OKUNROBO et al., 2010). As hastes são tortas e sua casca marrom-avermelhada, fina, lisa e apresenta descamação contínua. O sistema radicular é geralmente superficial e muito extenso, sendo que em muitas vezes se estende bem além do dossel. Cada planta possui suas raízes profundas, mas sem raiz principal distinta (SHURUTHI et al., 2013). As folhas são opostas e simples; as estípules estão ausentes, com pecíolo curto, 3-10 mm de comprimento; com formato elíptico-oblongo, com veias proeminentes, com glândula pontilhada e caem quando maduras. As flores são brancas, hermafroditas com pétalas encurvadas, surgem em grupo de 2 ou 3 sempre na axila das folhas e nas brotações surgidas em ramos maduros; elas são perfumadas, possuem de 4-6 pétalas. O fruto é pequeno do tipo baga com tamanho de 3 a 6 cm de comprimento, em forma de pera, com coloração amarelo-avermelhado quando maduros. A fruta contém várias sementes pequenas e consiste em um pericarpo carnososo (JIMENEZ et al., 2001; LOZOYA et al., 2002; LAPIK et al., 2005; SHURUTHI et al., 2013).

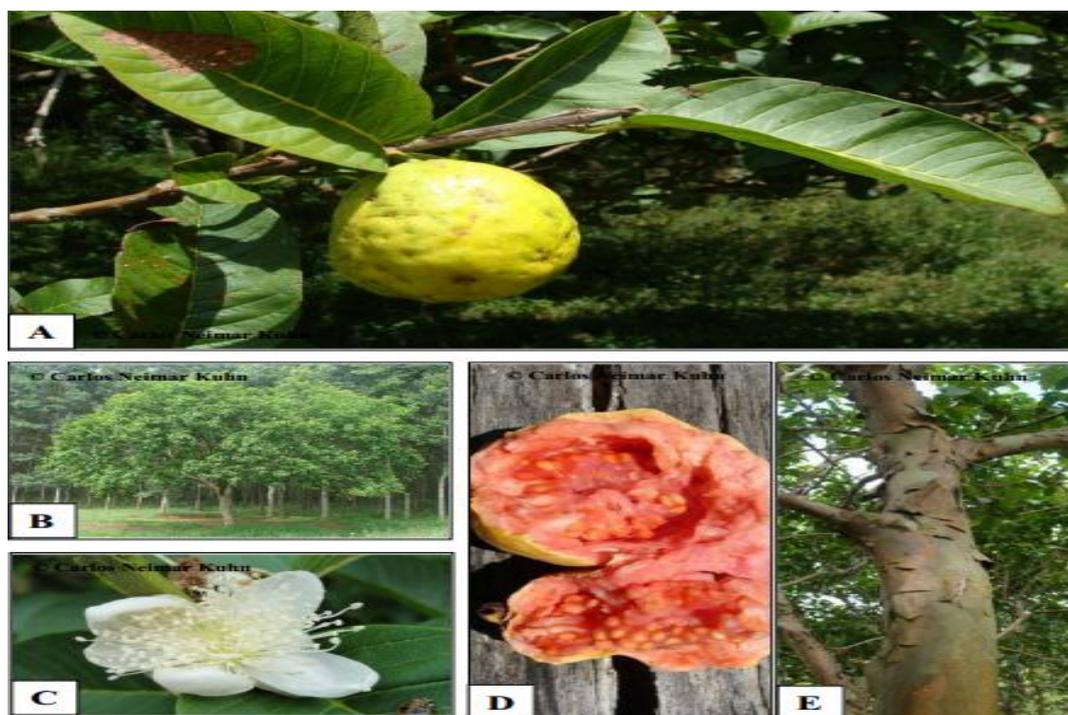


Figura 2. Espécie *Psidium guajava* L. (A) fruto; (B) Planta; (C) Flor; (D) Parte interna do fruto; (E) Caule. (KUHN, 2010).

Do ponto de vista econômico a goiabeira apresenta grande importância, pois a goiaba é um dos mais apreciados frutos tropicais, pelas suas características de sabor, aroma e pelo elevado valor nutritivo, sendo o Brasil é o maior produtor mundial desta fruta (CHITARRA et al., 1996; QUEIROZ et al., 1999; TEIXEIRA et al., 2007).

Alguns autores relatam que a goiabeira é nativa do Brasil, de onde foi levada para todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, em razão de sua fácil adaptação às diferentes condições edafoclimáticas, bem como da facilidade de propagação por meio de sementes (GONZAGA & SOARES, 1994).

Vários estudos têm sido realizados para verificar a composição química do óleo essencial extraído das folhas da goiabeira. Os constituintes majoritários encontrados mais frequentemente no óleo essencial desta espécie descritos na literatura são α -pineno, trans-cariofileno, 1,8- cineol, α -humuleno, α -santaleno, limoneno, óxido de cariofileno, eugenol, mirceno, aromadendreno, β -selineno (CRAVEIRO et al., 1981; PINO et al., 2001), sendo que estudos comprovaram a eficácia do 1,8-cineol como potente antimicrobiano e antifúngico. Suas folhas apresentam a seguinte composição química: taninos (9-10%), flavonoides, óleo essencial (90,3%) rico em trans-cariofileno, nerolidiol, β -bisaboleno, aromadendreno, p-selinemo, α -pinemo e 1,8-cineol; ácidos triterpenoide (ácido oleanólico, ursólico, catecólico, guaiavólico, maslínico), β -sitosterol. O caule possui taninos numa concentração de 12 a 30% (ALONSO, 1998; ALVES et al., 2006; COLE & SETZER, 2007).

Várias partes da planta *Psidium guajava* são usadas na medicina popular para o tratamento de cólicas, colite, diarreia, disenteria e dor de barriga. A casca tem sido usada para o tratamento de diarreia em crianças. As folhas são úteis para o alívio da tosse, doenças pulmonares, feridas e úlceras. O fruto é usado como tônico, laxante e anti-helmíntico (SHEN et al., 2008; KHADHRI et al., 2014). O extrato de folhas de *Psidium guajava* possui várias atividades biológicas, tais como antidiabético, anti-inflamatório, antitussígeno, antibacteriana, antimutagênica, atividade hipoglicêmica, antiespasmódica, antioxidante entre outras (SANTOS et al., 1998; JAIARJ et al., 1999; LOZOYA et al., 2002; OH et al., 2005; DE LIMA et al., 2010; KHADHRI et al., 2014). SATO et al. (2000), pesquisando a atividade antifúngica de extratos de plantas encontraram atividade antimicótica de *Psidium guajava* frente a *Aspergillus fumigatus*. Pessini et al. (2003) analisaram o extrato de *Psidium guajava* frente às leveduras *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* e obtiveram resultados positivos (ALVES et al., 2006). Segundo DE LIMA et al., 2010 os extratos das folhas de *P.*

guajava apresentam inúmeras atividades antimicrobiana contra diversas culturas de ensaio.

Estudos demonstram importante potencial antioxidante, atividade antimicrobiana e antifúngica do óleo essencial de *Psidium guajava* (SACCHETTI et al., 2005; MANOSROI Et al., 2006). JOSEPH et al., 2011 relataram que o óleo essencial de folhas de goiabeira contém terpenos e podem inibir fortemente as células cancerosas cervicais humanas. Óleo essencial de folhas de goiabeira tem demonstrado efeito citotóxico sobre as células do cancro do colo do útero humano (BUVANESWARI et al., 2011; SHURUTHI et al., 2013).

A utilização de plantas com ação biológica apesar de ser uma prática muito antiga, atualmente, ressurge como objeto de pesquisa em estudo de alternativas para o manejo integrado de pragas porque seus extratos e óleos essenciais apresentam propriedades inseticidas, repelentes, antifúngicas, bactericidas, entre outras.

2.4 Óleos Essenciais da família *Myrtaceae* como inseticidas naturais

As plantas medicinais e aromáticas produzem uma variedade de compostos orgânicos, dentre eles estão os metabólitos secundários, podendo destacar os óleos essenciais (MARTINS et al., 2010), que podem ser considerados fontes para o desenvolvimento de novos produtos naturais e inclusive serem utilizados como antibacterianos, analgésicos, sedativos, expectorantes, estimulantes, antioxidantes, inseticidas, antiviral, etc, como componentes de diversos medicamentos (COSTA et al., 2009; PELISSARI et al., 2010). Além de apresentar atividade direta sobre fitopatógenos como bactérias, nematoides e fungos, ou indireta, ativando mecanismos de defesa das plantas aos patógenos, cerca de 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas (OLIVEIRA et al., 2006).

Hoje em dia, o controle de pragas e insetos depende principalmente de inseticidas sintéticos, tais como organofosforados, carbamatos, piretroides e neonicotinoides. Estes inseticidas são frequentemente associados com os resíduos que são perigosos para o consumidor e o ambiente e em certas doses são tóxicos para os seres humanos e outros animais, além de alguns com suspeita de serem cancerígenos (LAMIRI et al., 2001; TAPONDJOU et al., 2005). A exaustiva utilização destes inseticidas sintéticos vem aumentando a resistência de alguns fitopatógenos a estes

produtos, assim, a necessidade de se preservar o meio ambiente e a saúde humana, tem instigado o teste de produtos naturais, visando um controle alternativo dos mesmos (NETO et al., 2012).

Os inseticidas botânicos apresentam grande vantagem em relação aos organossintéticos, por serem renováveis na natureza e mais baratos, além disso, apresentam ação e degradação rápida, sendo improvável que persistam no solo e por lixiviação se acumulem em águas subterrâneas, além de apresentar baixa toxicidade para mamíferos, reduzindo o impacto sobre populações não alvo e por não deixarem resíduos excessivos como os inseticidas sintéticos (ISMAN, 2000; ISMAN, 2008; CORREA & SALGADO, 2011). Como alternativa aos inseticidas convencionais tem sido sugerida a utilização de óleos essenciais produzidos por plantas medicinais e aromáticas por serem menos perigosos que os compostos sintéticos e por se degradarem rapidamente no meio ambiente (ISMAN, 2000; CORREA & SALGADO, 2011).

Dentre as plantas medicinais e aromáticas produtoras de óleos essenciais que têm mostrado grande potencial biológico, pode-se destacar a família Myrtaceae, dentre as espécies se destacam a goiaba (*Psidium guajava* L.), suas folhas apresentam taninos, óleos essenciais, triterpenos, β -sitosterol, flavonoides etc. (AJAIKUMAR et al., 2005). A goiabeira é uma planta de fácil acesso podendo ser encontrada em quintais residenciais e suas propriedades terapêuticas têm sido amplamente utilizadas na medicina popular, como estimulante, anti-inflamatório, antibacteriano, e seu o óleo essencial extraído de suas folhas tem sido estudado na literatura como poderoso antifúngico contra fitopatógenos (SCGWAN-ESTRADA et al., 2000; MANOSROI et al., 2006).

Estudos recentes demonstram que vasta gama de pragas, insetos e microrganismos são afetados pelos óleos essenciais extraídos das plantas pertencentes à família *Myrtaceae*. BRITO et al. (2006) estudaram o potencial inseticida do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus staigerana* na oviposição e número de insetos de *Zabrotes subfasciatus* e *Callosobruchus maculatus* e obtiveram como resultado a redução de ovos viáveis deste inseto, demonstrando o potencial inseticida dessas espécies. SHARMA et al. (2006) avaliaram o potencial inseticida do óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Sitophilus oryzae* e nenhuma infestação deste inseto foi observada com este tratamento.

Os gêneros *Angophora*, *Callistemon*, *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Leptospermum*, *Melaleuca*, *Myrcianthes*, *Myrtus*, *Pimenta*, *Psidium* e *Syzygium* apresentam bons

agentes inseticidas em seus óleos essenciais, sendo considerados como bioinseticidas. Os principais componentes dos óleos essenciais, tais como, 1,8-cineol, cariofileno, chavicol, p-cimeno, limoneno, linalol, mirceno, α -pineno, γ -terpineno, terpinen-4-ol e α -terpineol podem ser considerados a razão destes óleos possuírem atividade inseticida. (EBADOLLAHI, 2013).

Em virtude do óleo essencial das plantas do gênero *Psidium* apresentarem características antifúngicas, ALVES et al. (2006) estudando a atividade antifúngica do extrato da folha de *Psidium guajava* Linn. sobre leveduras do gênero *Candida*, concluíram que o extrato apresentou atividade antifúngica bastante satisfatória sobre as leveduras de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. stelatoidea* e *C. krusei*.

BEATRIZ et al. (2012) ao avaliarem a eficácia de extratos de folhas de *Psidium guajava* contra os seguintes fungos dermatófitos, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*, e *Sporotrix schenckii* e obtiveram como resultado a inibição do crescimento destes fungos, revelando assim a alternativa de antifúngico natural.

O óleo essencial extraído das folhas da *P. guajava* apresenta atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *S. anatum*; atividade repelente contra baratas, moderado efeito repelente contra o mosquito *Anopheles stephens Liston*, atividade anti-inflamatória, atividade antimicrobiana e antifúngica (GONÇALVES, et al., 2008; THAVARA et al., 2007; RAJKUMAR & JEBANESAN, 2007; RATTANACHAIKUNSOPON & PHUMKHACHORN, 2007).

Apesar de haver alguns relatos na literatura até o momento, sobre o potencial antifúngico do óleo essencial de folhas de goiabeira, ainda há grande carência de estudos sobre o óleo essencial desta espécie e de outras espécies de plantas medicinais e aromáticas encontradas no cerrado que podem produzir óleo essencial com alto potencial antimicrobiano ou antifúngico sobre fitopatógenos de grande importância econômica, como é o caso do mofo branco.

2.5 Mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*)

Sclerotinia sclerotiorum é um fitopatógeno fúngico conhecido como mofo branco, causador de sérios danos em muitas plantas de interesse econômico com perdas anuais significativas nessas culturas. Este fungo pertence à Classe dos *Ascomycetos*,

Subclasse *Discomycetos*, Ordem *Helotiales* e à Família *Sclerotiniaceae* e ao gênero e espécie *Sclerotinias sclerotiorum*. Este patógeno é estudado desde 1837, cosmopolita e inespecífico, pode infectar varias espécies de plantas, entre monocotiledôneas e dicotiledôneas (BOLAND & HALL, 1994). Este patógeno pode atacar a planta em qualquer estágio de desenvolvimento, principalmente próximo à colheita e produzem estruturas de resistência denominados escleródios, que tornam a doença de difícil controle em função do longo período de permanência destas no solo (PAVAN et al., 1997; KUHN, 2006).

LEITE (2005) destacou 75 famílias, 278 gêneros e 408 espécies de plantas que são atacadas por esse fungo, e entre eles se destacam a soja, girassol, canola, ervilha, feijão, alfafa, fumo, tomate e batata (BOLAND & HALL, 1994; AMORIN, 1995; BOLTON et al., 2006; DILDEY et al., 2014). Segundo CARDOSO (1990), o mofo branco, apresenta sintomas que se caracterizam pela podridão úmida coberta por um micélio hialino, septado, muito ramificado formando uma massa algodonosa na superfície dos órgãos atacados (Figura 3) (DILDEY et al., 2014). A partir deste micélio produzindo eventualmente estruturas de resistência denominadas escleródios tanto na superfície, como no interior das hastes e vagens infectadas (Figura 4 e 5) (ALMEIDA et al., 2005; DILDEY et al., 2014).



Figura 3 – Sintomas e sinais de mofo branco em hastes de soja, causados por *Sclerotinia sclerotiorum* (BRUSTOLIN et al., 2012).

Os escleródios são formados por um agregado de hifas com exterior preto e várias camadas de melanina, tem função importante na proteção em condições adversas

e de degradação microbiana em muitos fungos. A porção interna dos escleródios, a medula, está embutida na matriz fibrilar composta de hidratos de carbono, principalmente β -glucanos e proteínas (BRUSTOLIN, 2012). A melanina presente em sua estrutura confere resistência aos escleródios as condições adversas do solo fazendo com que permaneçam viáveis por até 11 anos, conservando intacto seu poder patogênico, entretanto, alguns pesquisadores acreditam que esse prazo não exceda pouco mais de 3 anos (XIMENES, 2013).

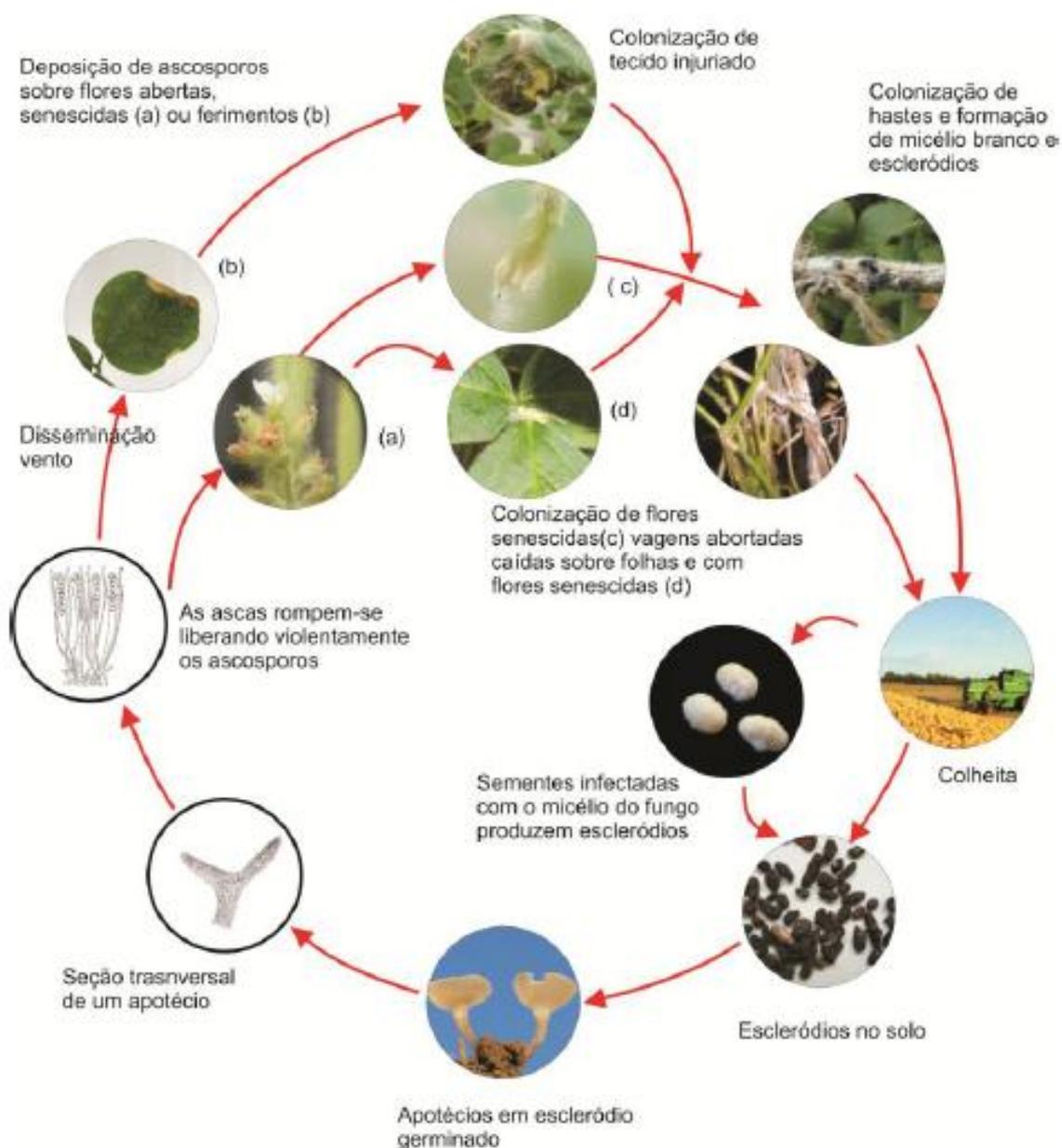


Figura 4 – Escleródios formados na medula da soja (BRUSTOLIN et al., 2012).



Figura 5 – Massa miceliana e formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, na superfície da haste (a) e na medula (b) (BRUSTOLIN et al., 2012).

A incidência do mofo branco é favorecida pela alta densidade de plantio, períodos prolongados de precipitação, elevada umidade do ar e temperaturas amenas (ETHUR, 2005). Os escleródios presentes no solo em condições favoráveis germinam e formam apotécios, que produzem grande quantidade de ascósporos, fonte primária da infecção, assim iniciando o ciclo da doença como pode ser observado na figura 6.



(Fonte: REIS, DANELLI & BRUSTOLIN, 2012)

Figura 6 – Ciclo do mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em soja (BRUSTOLIN et al., 2012).

Durante sua interação com a planta hospedeira, o *S. sclerotiorum* secreta ácido oxálico e enzimas, que permitem a maceração dos tecidos e, ainda, degradam os componentes da parede celular da planta. Além disso, o ácido oxálico cria um ambiente no qual as enzimas de degradação produzidas pelo fungo são mais eficientes (FILHO, 2012; XIMENES, 2013).

A pectina é o principal constituinte da parede celular da planta e o fungo produz pectinase que cumpre a função de degradação desse componente. O enfraquecimento da parede celular pela hidrólise da pectina facilita à penetração e a colonização da planta no instante que também providencia ao fungo a fonte de carbono necessária para dar origem ao seu crescimento. O patógeno produz várias formas de enzimas pectinolíticas que são capazes de matar células vegetais, deteriorando os tecidos, indicando assim sua função na patogenicidade (GORGEN et al., 2010; XIMENES, 2013).

Na soja, por exemplo, um recente levantamento estimou que 25% da área plantada no Brasil se encontram contaminada com este patógeno, o que corresponde a cerca de seis milhões de hectares. A doença tem maior relevância nas regiões altas dos cerrados (GO, BA, MG, MS, MT), mas também foi identificada no sul do país (FILHO, 2012).

Os melhores métodos de controle do mofo branco são a utilização de várias tecnologias, tais como: rotação de cultura, a adição de produtos biológicos nas culturas exploradas, a aplicação de fungicidas específicos para seu controle, sendo que este último pela falta de cultivares resistente no período entre 1964 e 1991 a utilização desses agrotóxicos teve o aumento de 276,2%. Aplicação de fungicidas pode prevenir a infecção por ascósporos; no entanto, por causa da dificuldade em conseguir a penetração de spray no dossel da cultura, a doença ainda pode ocorrer. Como consequências deste aumento do uso de fungicidas químicos, há a contaminação do solo, da água, dos alimentos e dos ecossistemas (PAN et al., 1997; CAMPANHOLA, 2003; XIE et al., 2011), como também o aumento da resistência do patógeno para com os fungicidas convencionais utilizados no combate do mofo branco.

Desta forma estes problemas têm impulsionado as pesquisas sobre o manejo integrado de pragas levando em consideração todo o sistema produtivo. Estratégias de manejo integrado de pragas incluem o melhoramento genético de plantas, melhoramento nas práticas de cultivo, utilização de inimigos naturais como o uso de *Trichoderma spp.* (*Hipocrales*, *Ascomycota*) como agente de biocontrole (AHMAD & BAKER, 1987; BETTIOL & GHINI, 1995; WHIPPS & LUMSDEN, 2001), melhoramento do controle químico, bem como a substituição dos agrotóxicos por compostos naturais obtidos de plantas com propriedades antifúngicas que sejam eficientes com mínimo de impacto ambiental e que não seja perigoso para os consumidores (SCHWAN-ESTRADA, 2003; DILDEY et al., 2014).

Vários estudos têm comprovado o efeito de metabólitos extraídos de plantas, como os óleos essenciais e extratos vegetais, que atuam como fungicidas naturais inibindo fungos fitopatogênicos, incluindo o *S. sclerotiorum* (CAMPBELL, 1989; STANGARLIN, 1999; FERRAZ et al., 2003; ATTI-SANTOS, 2010; PANSERA et al., 2012).

GARCIA et al. (2012) em seus estudos sobre extratos de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) arruda (*Ruta graveolens* L.), Santa Bárbara (*Melia azedarach* L.) e pimenta longa (*Piper aduncum* L.) constataram efeito fungicida sobre o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, sendo o extrato da folha da pimenta longa o mais promissor com inibição de 43% do crescimento micelial do fungo. RODRIGUES et al. (2007) estudaram o efeito fungicida do extrato de gengibre sobre o mofo branco e constataram o seu potencial para o controle deste fungo em alface, que pode ocorrer tanto pela atividade antifúngica direta do extrato estudado quanto pela ativação de mecanismos de defesa da própria planta.

Estudos sobre atividades biológicas dos óleos essenciais no controle do mofo branco também têm se destacado. MELLO et al. (2005) avaliando a eficácia do óleo de nim indiano (*Azadirachta indica*) no controle de *S. sclerotiorum*, concluiu que o óleo de nim nas concentrações de 0,25, 0,5 e 2% reduziram o crescimento micelial e formação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, comparado ao tratamento testemunha. MARTINS et al. (2010) verificaram que óleo de *Melaleuca arternifolia* reduziu o crescimento micelial dos fungos *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria alternata*, a partir da concentração de 0,2% incorporada ao meio de cultura. GARCIA et al. (2012) observou que a associação entre os óleos de Karanja (*Pongamia glabra*) e nim indiano (*Azadirachta indica*) em diferentes concentrações proporcionaram melhor efeito inibitório sobre o patógeno, demonstrando um efeito sinérgico entre os óleos destas duas espécies no controle do mofo branco.

Apesar desses estudos sobre o potencial biológico dos óleos essenciais no controle do mofo branco, ainda não há relatos sobre a ação do óleo essencial extraídos das folhas de *Psidium guajava* no controle deste patógeno agrícola, demonstrando a importância de maiores estudos nesta área.

3 OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar o efeito da secagem natural e artificial de folhas da goiabeira sobre o teor e a composição química do óleo essencial e testar a atividade biológica do óleo essencial da goiabeira sobre o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*.

3.2. Específicos

- Quantificar o óleo essencial extraído de folhas da goiabeira em dois diferentes tipos de secagem;
- Identificar os constituintes químicos presentes nos óleos essenciais extraídos;
- Avaliação do potencial do óleo essencial extraído das folhas da goiabeira no controle do fungo fitopatogênico (*Sclerotinia sclerotiorum*) causador do mofo branco.

4 METODOLOGIA

4.1 Local de coleta e identificação do material vegetal

Foram utilizadas plantas de goiabeira (*Psidium guajava*) provenientes de plantações localizadas no Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde situada a latitude 17°48'28" S, longitude 50°53'57", com altitude média de 720 m ao nível do mar, no município de Rio Verde, localizado no sudoeste do Estado de Goiás. A espécie foi identificada pelo biólogo Ordilei Simões responsável pelo Herbário da Universidade Estadual de Montes Claros – Minas Gerais, e amostras da espécie em estudo foram depositadas como exsicata sob o número de identificação 4481.

4.2 Coleta e obtenção das amostras

As folhas de *P. guajava* foram coletadas nos meses de janeiro e julho de 2014, entre às 6 e 8 horas da manhã, em pontos aleatórios da copa da planta com o auxílio de um podão. Após a coleta, o total de 6 Kg de folhas foi transportado em sacos plásticos para o Laboratório de Química de Produtos Naturais, do Departamento de Química do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, e foram imediatamente homogeneizados e tomadas aleatoriamente três amostras de 100 g de folhas *in natura* que foram trituradas em liquidificador e submetidas a extração do óleo essencial em aparelho de Clevenger. O óleo essencial extraído foi pesado para determinar o teor de óleo essencial da planta *in natura* e guardado no congelador para posterior análise da constituição química, o restante do material foi pesado e separado para realizar os experimentos para avaliar a influência dos métodos de secagem.

4.3 Secagem das folhas de *Psidium guajava*

A secagem foi realizada no Laboratório de Química de Produtos Naturais, situado no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

No experimento foram avaliados dois métodos de secagem: secagem natural à sombra com temperatura ambiente e secagem artificial a 40°C em estufa com circulação forçada de ar. Para a determinação do tempo de secagem das folhas frescas de goiabeira foram realizados testes prévios, e o material vegetal foi pesado periodicamente até a obtenção de peso constante para os tratamentos avaliados, sendo obtidos os seguintes tempos de secagem: 0; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16 dias. O experimento de secagem para ambos os métodos de secagem foi realizado a partir destes parâmetros previamente avaliados com três repetições para cada tempo utilizando 100 g de folhas frescas para cada repetição. Este procedimento foi realizado para se avaliar o efeito do tempo de secagem sobre os constituintes químicos como também sobre o teor do óleo essencial da planta em estudo, estes parâmetros como a temperatura e o tempo de secagem variam de acordo com cada espécie (MARCHESE & FIGUEIRA, 2005).

Na secagem natural à sombra as folhas foram dispostas sobre sacos de papel Kraft pardo dispostas no próprio laboratório à sombra, protegidas do sol e da chuva, sendo pesadas conforme os nove tempos pré-determinados até atingir peso constante, o que foi obtido com 16 dias de secagem. A temperatura e a umidade foram registradas por meio de termôhigrometro digital (Tabela 1).

A secagem em estufa com circulação forçada de ar se deu a 40°C, pois plantas que contenham substâncias voláteis devem ser secas em temperaturas inferiores a 40°C (MARCHESE & FIGUEIRA, 2005), e as folhas foram colocadas dentro de sacos de papel Kraft pardo e dispostas de forma aleatória dentro da estufa, sendo pesadas seguindo os mesmos critérios do processo realizado para secagem à sombra.

Após cada tempo de secagem as folhas foram imediatamente trituradas em liquidificador comercial e submetidas ao processo de extração do óleo essencial.

4.4 Extração do óleo essencial

O óleo essencial de folhas de *P. guajava* foi obtido por hidrodestilação (CRAVEIRO et al., 1981). Tanto o material *in natura* como o submetido aos métodos de secagem foram triturados em liquidificador comercial juntamente com 500 mL de água

destilada e colocados em um balão de fundo redondo com capacidade para 1.000 mL sobre uma manta aquecedora e submetidos à hidrodestilação por duas horas, em aparelho do tipo Clevenger. Na hidrodestilação utilizando Clevenger, o material vegetal foi imerso em água destilada sob aquecimento até a fervura, resultando na formação de componentes voláteis, os quais, após condensação se separam da fase aquosa por decantação. O hidrolato foi extraído com diclorometano, em três repetições de 10 mL cada, e a fase orgânica foi separada com funil de separação. O resíduo de água da fração diclorometano obtida foi retirado utilizando sulfato de sódio anidro e após a completa evaporação do diclorometano o óleo essencial obtido teve a sua massa medida em balança analítica e foi armazenado a 4°C em geladeira para posterior análise em CG-MS. O rendimento percentual do óleo foi calculado relacionando a massa do óleo obtida após extração e a massa de material vegetal antes da extração.

4.5 Análise química do óleo essencial

As análises dos constituintes químicos dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), do Departamento de Química (DEQ) da Universidade Federal de Viçosa. A análise quantitativa dos constituintes do óleo essencial em estudo foi realizada em cromatógrafo a gás Shimadzu GC-17A equipado com detector de ionização de chama (DIC) e coluna capilar de sílica fundida SPB-5 (30m x 0,25mm, com espessura do filme de 0.25 μm), com as seguintes condições cromatográficas: Nitrogênio como gás de arraste (1,8 mL/min⁻¹), temperatura do injetor de 220°C e do detector de 240°C, temperatura inicial da coluna 40°C, isotérmica por 4 min., seguido de aquecimento a 3°C min até 240°C, permanecendo isotérmica por 15 min; volume de injeção da amostra: 1,0 μL (10 mg.mL⁻¹ em C₂Cl₂); razão de Split, 1:10; pressão da coluna, 115 kPa.

Para identificação dos componentes dos óleos essenciais, utilizou-se aparelho Cromatógrafo Shimadzu CG-17A equipado com coluna de sílica fundida RTX-5 (30m x 0,25mm, com espessura de filme 0.25 μm), e acoplado a Espectrômetro de Massas CGMS-QP 5050A Shimadzu. As condições cromatográficas foram idênticas as utilizadas no CG-DIC, exceto o gás de arraste, que foi o hélio, e a pressão da coluna, que foi 100 kPa. Em relação ao espectrômetro de massas, o processo de ionização foi por impacto de elétrons (70 eV) e a amplitude de varredura foi de 30 a 700 Da.

A identificação dos constituintes foi realizada por comparação dos espectros de massas obtidos experimentalmente com os disponíveis na base de dados do equipamento (Wiley sétima edição) e também pela comparação do índice de retenção relativo calculado a partir da injeção da mistura de alcanos (C9 a C26) com a da literatura (ADAMS, 1995).

4.6 Ensaio Biológico

O ensaio biológico foi realizado no laboratório de microbiologia vegetal do IF Goiano – campus Rio Verde. Os isolados de *S. sclerotiorum* Ss12 (BRM 29673) e Ss 43 (BRM 29870) utilizados no experimento foram cedidos pela Embrapa Arroz e Feijão, localizada em Santo Antônio de Goiás, GO, seguindo metodologia utilizada por SILVA et al., 2009 com algumas adaptações. Os isolados foram mantidos em estufa de crescimento no laboratório de microbiologia vegetal do IF Goiano- campus Rio Verde até a sua utilização nos ensaios. No ensaio, os óleos essenciais extraídos das folhas de *P. guajava in natura* tanto na época da seca como das chuvas, foram avaliados sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum*, em concentrações pré-definidas de, 100, 200 e 300 µl do óleo em estudo, concentrações estas previamente testadas a partir da concentração utilizada por SILVA et al., (2009) quando testou este mesmo óleo essencial contra outra espécie de fungo.

Como controle negativo, utilizou-se a testemunha (ausência do óleo essencial de goiabeira) e fungicida frowside, na concentração de 10 µg ml⁻¹ do ingrediente ativo, como controle positivo. As concentrações do óleo foram adicionadas ao meio de cultura após esterilização e solidificação, bem como para o tratamento com fungicida, com auxílio da alça de Drigalski previamente esterilizada. Após a solidificação do meio de cultura, e adição do óleo essencial, discos de BDA de 8 mm de diâmetro, contendo micélio com 7 dias de idade, foram depositados no centro das placas de Petri de 9 cm de diâmetro, as quais foram incubadas à temperatura de 22 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas, a primeira avaliação foi realizada após 48 horas de incubação e se procedeu até o crescimento total das testemunhas.

A determinação da inibição do crescimento do fungo foi realizada pela média das repetições para cada tratamento, através de valores de PIC (Percentual de Inibição do Crescimento Micelial), método descrito por EDGINTON et al. (1971).

Ao todo foram realizados dois experimentos com isolados de *S. sclerotiorum* utilizando a mesma metodologia. Foram realizados dois experimentos para avaliar o potencial fungicida do óleo essencial na época das chuvas e da seca. O primeiro foi realizado entre fevereiro e março de 2014 e o segundo realizado em dezembro de 2014, ambos utilizando óleos essenciais extraídos das folhas *in natura* de *P. guajava*.

4.7 Análise Estatística

O delineamento experimental referente ao experimento de secagem foi o inteiramente ao acaso em esquema fatorial de 2 (épocas de avaliação) x 2 (métodos de secagem) x 9 (tempo de secagem), com três repetições. No ensaio biológico, utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso constituído de cinco tratamentos: controle +, controle -, 0, 100, 200 e 300µl com seis repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade por meio do *software* ASSISTAT.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Teor de óleo essencial de folhas de *Psidium guajava* L.

coletadas em duas épocas do ano

O tempo de obtenção de peso constante das folhas de goiabeira não diferiu estatisticamente entre as épocas de colheita (janeiro e julho). Como pode ser observado na figura 7 a perda de água pelos tecidos vegetais foi mais intensa nas primeiras horas de secagem e a partir do quarto dia tende a estabilização.

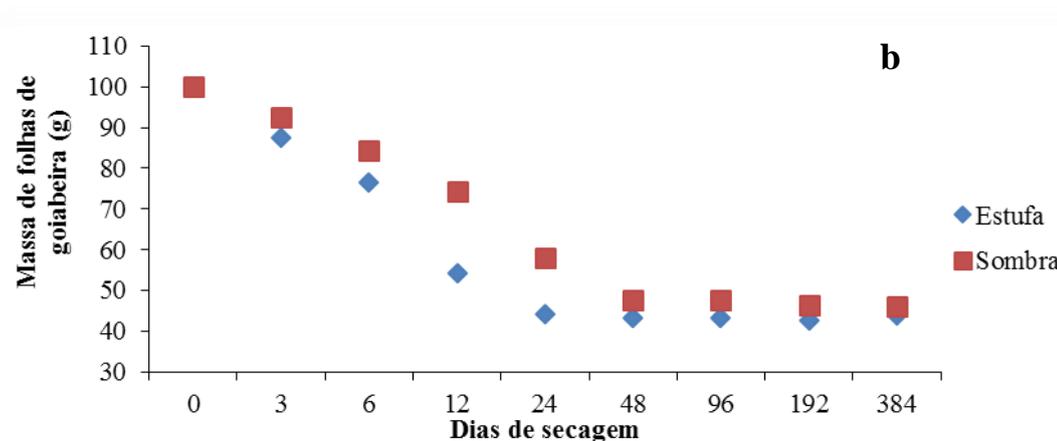
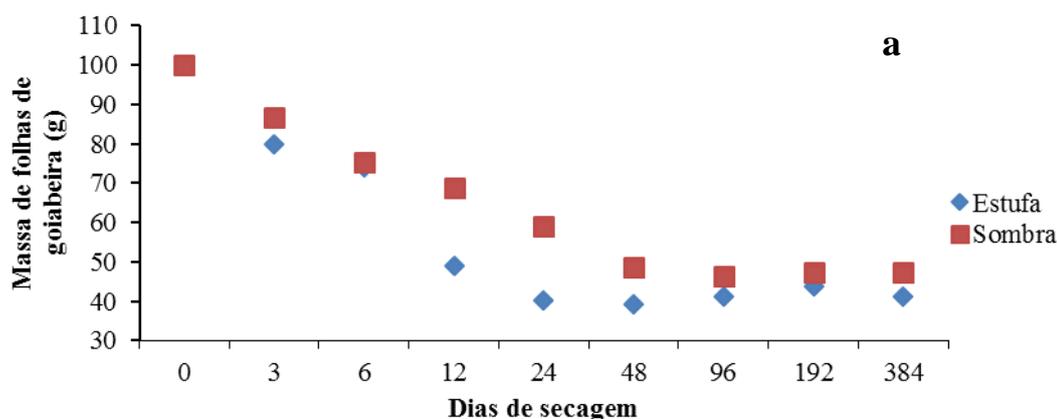


Figura 7 – a) Massa de folhas de goiabeira coletadas na época das chuvas em janeiro de 2014 submetidas a secagem à sombra e em estufa. b) Massa de folhas de goiabeira coletadas na época da seca julho de 2014 submetidas a secagem à sombra e em estufa.

O motivo de se ter obtido o mesmo tempo de secagem em ambas as épocas pode ter ocorrido pela baixa variação nas condições climáticas, relacionadas à temperatura e umidade relativa do ar (Tabela 1). NAGAO et al. (2004) obteve resultados distintos quando estudou épocas diferentes da colheita de erva-cidreira. Na época da seca houve queda acentuada na massa do material vegetal nos dois primeiros dias de secagem e para a época das chuvas a queda foi com quatro dias de secagem.

Tabela 1: Valores da temperatura do ar (°C), umidade relativa (%) e precipitação pluviométrica diária (mm) durante o processo de secagem na época das chuvas (jan/14) e da seca (jul/14) nas condições climáticas de Rio Verde-GO.

JANEIRO/2014			
Horas de secagem	T méd.	UR*	Precipitação
0	26,0	70	17
3	28,4	61	17
6	29,9	57	17
12	27,6	62	17
24	26,2	65	17
48	26,9	65	49
92	24,8	68	49
196	26,9	70	49
384	26,0	70	1
JULHO/2014			
Horas de secagem	T méd.	UR	Precipitação
0	23,0	65	0
3	23,7	59	0
6	23,3	55	0
12	23,0	60	0
24	23,7	61	0
48	23,0	61	0
92	21,0	60	0
196	23,0	49	0
384	21,4	52	0

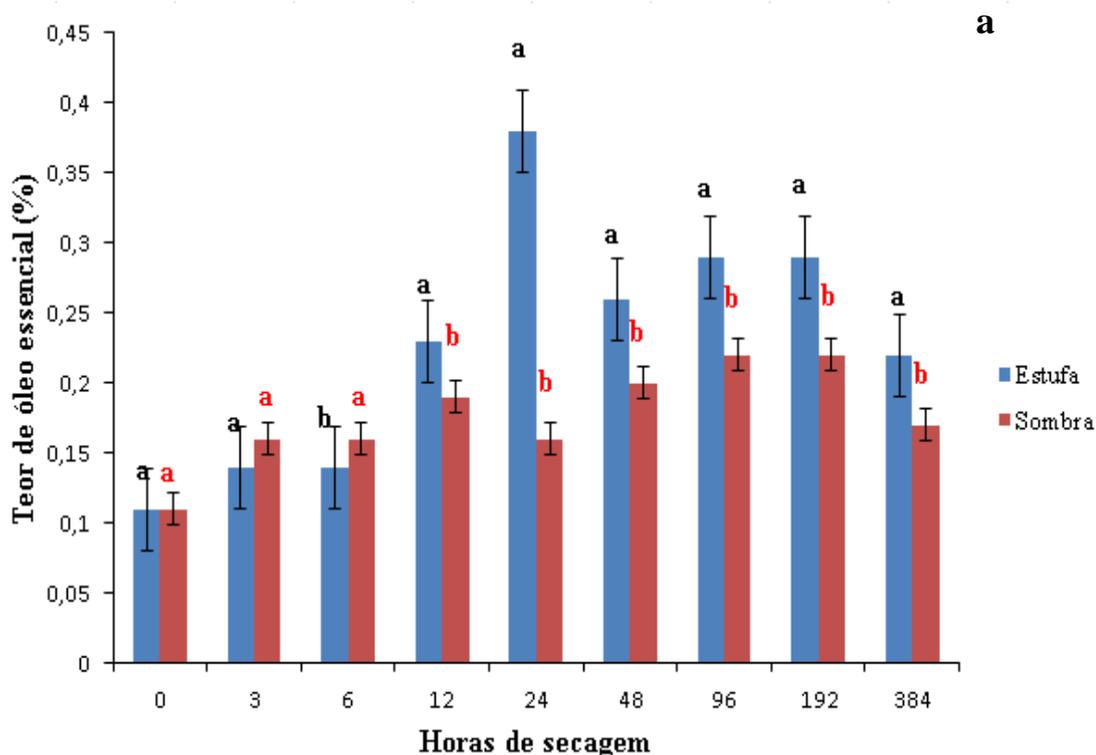
*UR – Umidade Relativa

SILVA & CASALI (2005); ARRUDA (2004) relata em seus trabalhos que o processo de secagem artificial proporciona maior perda do teor de umidade nas plantas, reduzindo assim o tempo de secagem em relação ao processo natural. No presente experimento, no entanto, houve estabilização do peso das folhas de goiabeira a partir do quarto dia de secagem nos dois métodos de secagem em ambas as épocas avaliadas. Este resultado pode estar relacionado com as condições climáticas semelhantes ao ambiente no qual foi realizado a secagem natural e artificial, em estufa com circulação

de ar a 40°C. A umidade observada nas folhas ao final da secagem para ambos os métodos foi abaixo de 13%, valor que está de acordo com o recomendado por diferentes farmacopeias, ou seja, entre 8 e 14% b.u. (FARIAS et al., 2003).

O fato de se ter encontrado o mesmo tempo de secagem para ambos os métodos de secagem tem suas vantagens, pois a secagem natural à sombra é um dos processos mais viáveis para a secagem de plantas medicinais para pequenos produtores, por evitar alto custo e investimentos. Já a secagem artificial tem como vantagem a sua praticidade e eficiência e pode ser utilizada no processamento pós-colheita de plantas medicinais e aromáticas em condições climáticas não favoráveis, sendo que o método de secagem a ser empregado irá depender para qual finalidade o material irá ser utilizado.

Os resultados obtidos dos efeitos dos métodos de secagem natural à sombra e artificial em estufa com circulação de ar a 40°C sobre o teor do óleo essencial das folhas de goiabeira (*Psidium guajava*) podem ser observados na figura 8.



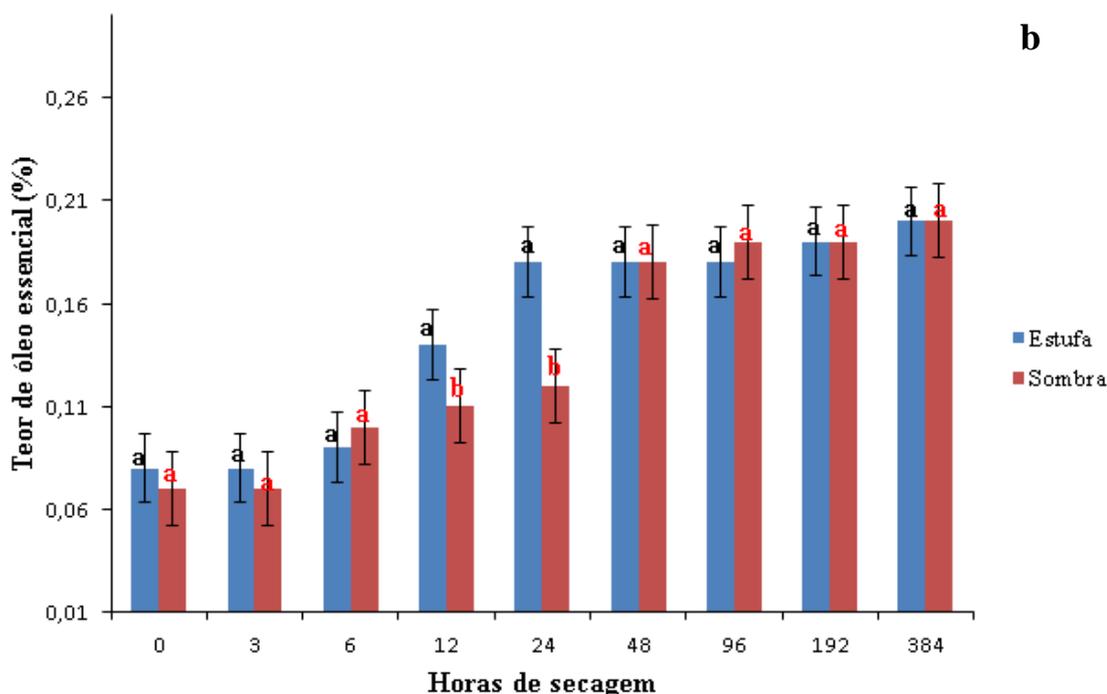


Figura 8 – Teor de óleo essencial das folhas de goiabeira submetidas a processo de secagem à sombra e secagem artificial. a) Época das chuvas janeiro de 2014. b) Época da seca julho de 2014. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na época das chuvas (Figura 8a) pode-se observar que os métodos de secagem natural à sombra e artificial em estufa, apresentaram diferença estatística significativa entre si, sendo que a secagem em estufa apresentou maior teor de óleo essencial a partir das 12 horas de secagem, em relação a secagem natural à sombra, até ao final do processo de secagem. Na época da seca (Figura 8b) o teor de óleo essencial obtido nos dois métodos de secagem apresentou diferença estatística significativa entre os horários de 6 e 24 horas de secagem, sendo que a secagem em estufa apresentou teor maior de óleo essencial apenas em 12 e 24 horas de secagem, nos demais horários o valor do teor de óleo não apresentou diferença estatística significativa. DABAGUE et al., (2011) ao avaliar o teor de óleo essencial de rizomas de gengibre, em relação ao tempo de secagem, observou que o tempo prolongado de secagem reduz o teor de óleo essencial desta espécie.

Em relação à comparação dos métodos de secagem, em ambas as épocas de avaliação, verificou-se para secagem em estufa tanto na época das chuvas como na época da seca (Figura 9a) que os resultados encontrados para o teor de óleo das folhas de goiabeira apresentou diferença estatística significativa em todos os horários de secagem, sendo que para este método de secagem os maiores teores de óleo essencial

foram obtidos na época das chuvas, chegando a 0,38% com 24 horas de secagem em estufa. Já para a secagem natural à sombra o teor de óleo obtido tanto na época das chuvas como na época da seca (Figura 9b), apresentou diferença estatística significativa para todos os horários de secagem, com exceção do horário de 48 horas de secagem em que ambas as épocas este método de secagem apresentou o mesmo teor de óleo estatisticamente entorno de 0,19%.

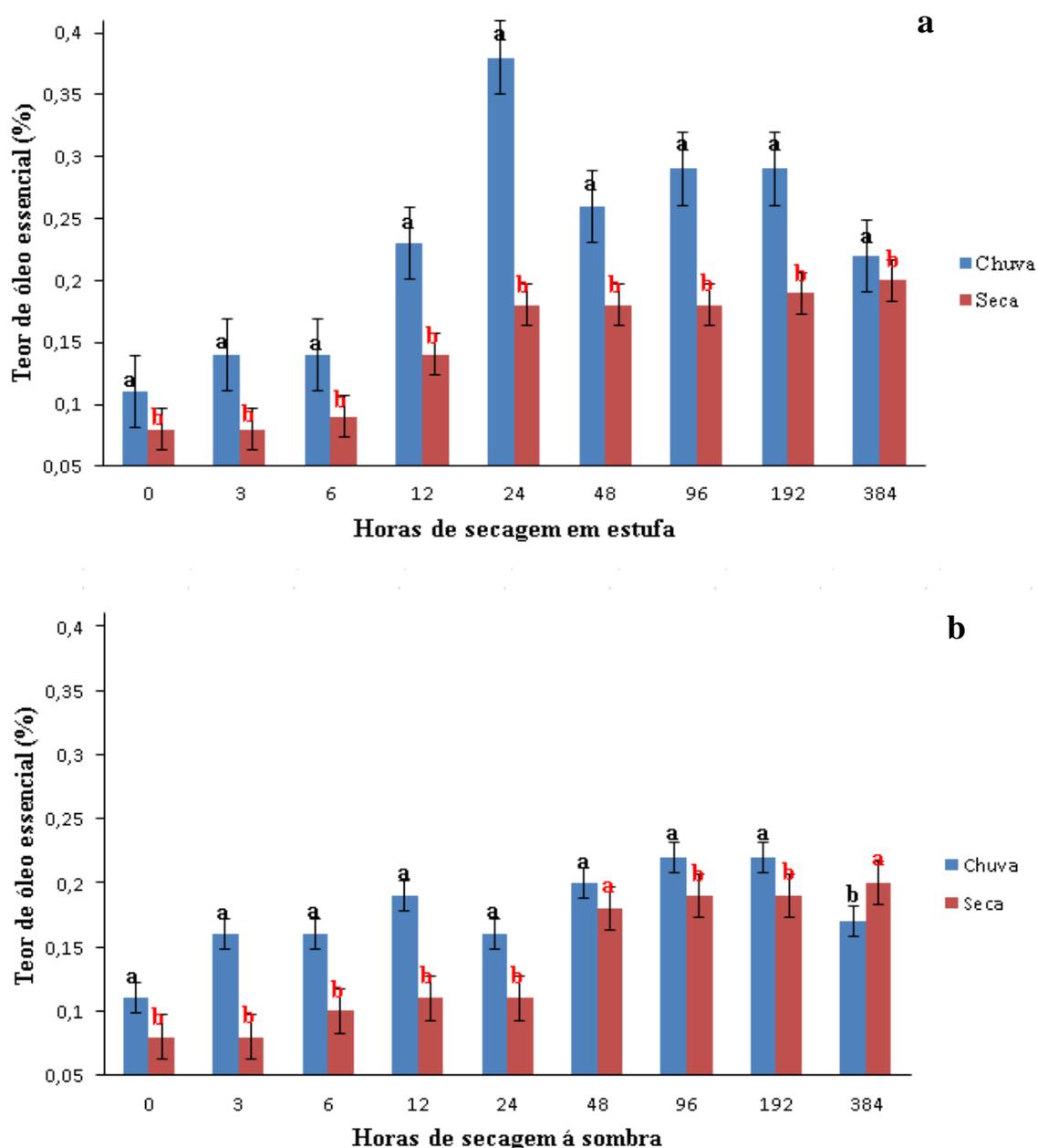


Figura 9 – a) Médias dos teores de óleo essencial (%) de *Psidium guajava* Lin. submetidas a secagem em estufa na época das chuvas e da seca. b) Médias dos teores de óleo essencial (%) de *Psidium guajava* Lin. submetidas a secagem natural à sombra coletadas na época das chuvas e da seca. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A secagem em estufa apresentou aumento no teor do óleo essencial de 71% na época das chuvas e 55,5% na época da seca com 24 horas de secagem, em relação ao teor de óleo das folhas *in natura*. Já a secagem à sombra apresentou aumento no teor do óleo essencial de 50% na época das chuvas e 57,89% na época da seca com 96 horas de secagem, em relação ao teor de óleo obtido das folhas *in natura*. Resultados semelhantes foram encontrados por ROSAS et al., (2004) ao estudar o efeito de diferentes métodos de secagem no teor de óleo essencial de folhas de basilicão (*Ocimum basilicum*), verificando que a secagem em estufa a 35°C permitiu maior teor de óleo essencial nesta espécie, em comparação com secagem em desumidificador.

CORRÊA et al. (2004) estudando o efeito da secagem (estufa a 35° C, secador solar a 32° C, secagem mista a 27° C e secagem à sombra a 25° C), constataram que o menor teor de óleo essencial de *Vernonia polyanthes* Less. ocorreu na secagem realizada em estufa. Já ROSADO et al., (2011) ao estudar a influência do processamento da folha e do tipo de secagem no teor de óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) observou que a secagem em estufa apresentou maior teor de óleo essencial em relação ao material vegetal submetido a secagem em desumidificador. Já OMIDBAIGI et al., (2004), estudando influência do método de secagem sobre o teor de óleo essencial da camomila romana (*Chamaemelum nobile*) comparou a secagem natural à sombra, secagem ao sol com a secagem em estufa a 40°C e observou que a secagem natural à sombra apresentou maior teor de óleo essencial que os demais métodos avaliados, assim demonstrando que para cada espécie há um método de secagem específico para que se obtenha o maior teor de óleo essencial do material vegetal.

O maior rendimento do óleo essencial extraído das folhas de goiabeira foi obtido nas folhas coletadas na época das chuvas (jan/2014) ao se comparar com as folhas coletadas na época da seca (julh/2014), essa diferença no teor de óleo essencial segundo relatos na literatura, pode estar relacionada às condições climáticas, em que o mês de janeiro de 2014 apresentou maior média de temperatura de (29°C) e maior umidade relativa do ar (70%), ocasionando em condições favoráveis para produção de óleo essencial (BRANT et al., 2008), como também, acredita-se que este resultado pode estar sendo influenciado pelo maior comprimento dos dias de verão, que, conseqüentemente, traz melhores condições para desenvolvimento vegetativo das plantas.

A redução dos teores de óleo essencial, principalmente no inverno que na região é predominantemente seco no período de junho a agosto, pode ser explicada pelo

acionamento do mecanismo natural de fonte-dreno, que degrada metabólitos secundários e direciona seus compostos químicos para a manutenção do metabolismo primário (TAIZ; ZEIGER, 2004), assim reduzindo os teores de óleo essencial das folhas de goiabeira na época da seca.

Resultados semelhantes foram encontrados por BOTREL et al., (2010) que observou a influência da sazonalidade no teor do óleo essencial de *Hyptis marrubioides*, e o maior rendimento em teor de óleo foi obtido no verão (0,42%) e o menor no inverno (0,27%), já REIS et al., (2010) encontrou resultados contrários ao estudar o óleo essencial de arnica (*Lychnophora pinaster*), que no verão ocorreu menor produção de óleo essencial (0,29%). Isso mostra que o teor de óleo essencial em função da sazonalidade é bastante variável entre as espécies de plantas medicinais

AKROUT et al., (2003), estudando a variação sazonal do óleo essencial de *Artemisia campestris L.*, concluíram que o rendimento de óleo essencial foi maior em agosto (1,2%) e menor em novembro (0,65%). Para ATTI et al., (2002) ao estudarem a variação no teor de óleo essencial de *Lippia alba* em diferentes épocas do ano, concluíram que o maior rendimento em óleo ocorreu no período de dezembro a março e o menor rendimento foram observados nos meses de junho a agosto. NOGUEIRA et al., (2007), observaram melhores rendimentos no teor do óleo essencial de erva-cidreira na primavera (0,54%) e verão (0,38%), sendo os menores rendimentos observados no inverno (0,13%) e outono (0,19%).

Outro fator que pode influenciar tanto no teor como na composição química do óleo essencial submetido aos métodos de secagem é a localização dos óleos essenciais nas plantas que varia de acordo com a família botânica a que pertence, podendo ocorrer em estruturas secretoras especializadas (COSTA et al., 2005). A família myrtaceae se caracteriza pela presença de cavidades secretoras de óleos essenciais adjacentes à epiderme, pela ocorrência de tricomas tectores unicelulares, de estômatos anomocíticos ou paracíticos e feixes vasculares bicolaterais (DONATO et al., 2011). Ao se estudar a morfologia foliar da espécie *Psidium guajava* pertencente à família myrtaceae revelou que suas folhas são hipoestomáticas (possuem os estômatos localizados na epiderme inferior da folha), havendo ocorrência de grande número de tricomas e glândulas oleíferas (LIMA, 2006).

A diminuição no teor de voláteis do óleo essencial de folhas de goiabeira durante o processo de secagem pode ter ocorrido pela perda dos compostos armazenados em estruturas internas, como cavidades secretoras ou células oleíferas

presentes mais externamente nas folhas em estudo, que podem ser arrastados pelos vapores de água durante o processo de secagem, uma vez que a água pode atuar como solvente, possibilitando a difusão de compostos voláteis ao secar o material, e o seu vapor pode atuar como agente carreador dos compostos lipofílicos voláteis. Por outro lado, o processo de secagem pode causar impacto considerável nas estruturas físicas do material vegetal, e pode ocasionar a ruptura de tecidos, conseqüentemente, de estruturas secretoras, resultando no extravasamento dos compostos presentes em seu interior, incluídos os constituintes voláteis, assim aumentando seu teor (PIMENTEL et al., 2012).

No presente trabalho, na época das chuvas a secagem artificial em estufa apresentou aumento no teor de óleo essencial de 71% enquanto a secagem à sombra apresentou apenas 50% no teor de óleo essencial, aumento em relação ao teor de óleo das folhas *in natura*, sendo que a secagem em estufa é sugerida para esta época. Isso pode ter sido por causa da secagem em estufa favorecer a quebra das estruturas destas cavidades secretoras oleíferas presentes nas folhas em estudo, contribuindo para maior rendimento de óleo essencial durante a extração (PIMENTEL et al., 2012).

Já na época da seca, os métodos de secagem não influenciaram de forma significativa o teor de óleo essencial, pois tanto a secagem em estufa como a secagem à sombra apresentaram aumento de 60% no teor de óleo essencial em relação ao teor obtido das folhas *in natura*, sendo que a escolha do método de secagem nesta época avaliada possa depender da finalidade a qual o óleo essencial será submetido. Este resultado pode estar ligado ao fato que na época da seca se tem temperaturas mais altas e umidade relativa mais baixa, caracterizada como quente e seca, assim proporciona secagem semelhante ao da estufa na mesma proporção de tempo, não alterando o conteúdo de óleo essencial nas folhas em estudo (NAGAO et al., 2004). Contudo para a espécie *P. guajava* o maior teor de óleo essencial foi obtido na época das chuvas com 24 horas de secagem em estufa a 40°C.

5.2 Composição química do óleo essencial das folhas de *Psidium guajava* L.

Foram identificados 17 constituintes, correspondendo a 95,4% de compostos identificados no óleo essencial extraído de folhas *in natura* da goiabeira na época das chuvas, divididos entre monoterpenos hidrocarbonados e oxigenados e sesquiterpenos

hidrocarbonados e oxigenados (Tabela 2 e 3). Os sesquiterpenos geralmente são menos voláteis que os monoterpenos e podem influenciar sensivelmente o odor dos óleos essenciais (WATERMAN, 1993; LOAYZA et al., 1995). Os monoterpenos hidrocarbonicos e oxigenados identificados foram: limoneno e 1,8-cineol respectivamente. Já os sesquiterpenos hidrocarbonicos identificados foram: α -copaeno, trans-cariofileno, α -humuleno, 4,11-selinadieno, γ -gurjuneno, γ -muuroloeno, β -selineno, aromadendreno, α -selineno, β -bisaboleno, α -panasinseno e δ -cadineno; e os sesquiterpenos oxigenados foram: trans-nerolidol, álcool de cariofileno, óxido de cariofileno, epóxido de α -humuleno II, longipineno epóxido, epi- α -muurulol, α -muurulol, selin-11-en-4 α -ol e ciz-Z- α -bisaboleno epóxido.

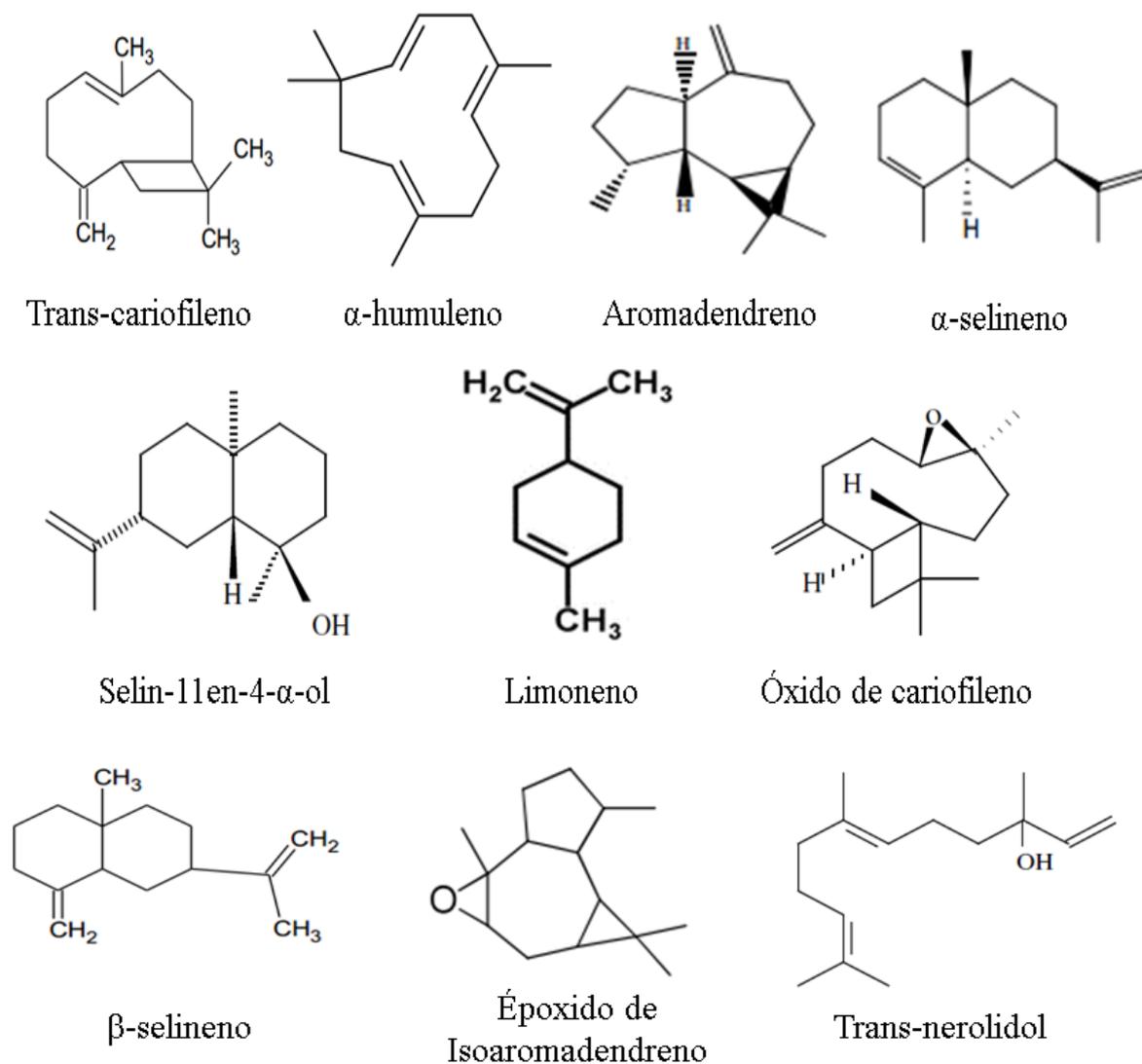


Figura 10 – Estrutura química dos compostos majoritários identificados no óleo essencial de folhas de goiabeira extraídos na época das chuvas e da seca.

Tabela 2: Constituintes químicos presentes no óleo essencial de folhas de goiabeira (*Psidium guajava*) submetidas a secagem em estufa colhidas na época da chuvas jan/14.

COMPOSTOS	IK cal*	IK Lit*	Área (%) Secagem estufa jan/14								
			Fresca	3h	6h	12h	24h	48h	96h	192h	384h
Limoneno	1024	1026	3,67	5,19	5,33	2,79	3,37	2,18	0,86	4,59	4,75
1,8-cineol	1026	1027	0,11	-	0,15	-	0,10	-	-	0,08	0,10
α -copaeno	1374	1374	0,32	-	-	0,27	0,30	0,32	0,33	0,25	0,28
trans-cariofileno	1419	1417	18,98	16,26	15,33	14,13	15,13	15,61	16,84	13,80	13,86
α -humuleno	1454	1452	18,41	17,96	15,99	16,14	13,65	15,09	13,59	16,94	15,61
4,11-selinadieno	1475	1473	0,29	-	-	0,09	0,09	-	-	-	-
γ -gurjuneno	1476	1475	-	-	-	-	-	1,23	-	-	-
γ -muuroleno	1478	1478	1,30	-	-	1,00	1,24	-	1,39	1,20	1,15
β -selineno	1485	1489	-	-	10,57	9,90	-	-	-	-	-
Aromadendreno	1488	1496	12,09	-	-	-	-	11,63	12,93	9,72	11,16
α -Selineno	1497	1498	11,39	10,09	9,90	9,03	11,12	10,83	12,12	8,87	10,32
β -bisaboleno	1509	1505	-	-	-	-	-	0,24	0,26	-	-
α -Panasinseno	1517	1518	0,34	-	-	-	-	-	0,34	0,27	0,31
δ -cadineno	1524	1522	-	-	-	-	-	-	0,30	-	-
trans-Nerolidol	1566	1561	2,92	0,31	-	2,50	3,06	3,17	3,40	2,59	2,85
Cariofileno álcool	1571	1570	-	-	-	0,22	0,17	0,18	0,15	0,22	0,18
Óxido de cariofileno	1585	1582	3,43	0,17	4,01	5,01	4,05	3,85	3,52	3,94	3,07
α -Humuleno epoxido II	1612	1609	2,38	0,41	3,05	4,16	2,83	2,91	2,13	3,61	2,80
Longipineno epoxido	1620	1619	0,98	4,01	-	1,52	1,17	1,20	1,03	1,44	1,23
epi- α muurolol	1639	1640	3,08	3,41	3,30	4,14	3,57	3,42	3,54	3,89	3,52
α -muurolol	1649	1644	-	1,07	-	1,29	1,44	1,43	0,54	-	-
α -cadinol	1651	1652	1,08	-	-	-	-	-	1,50	1,17	1,33
Selin-11-en-4 α -ol	1662	1658	8,76	9,77	10,44	10,26	11,54	11,42	12,20	9,90	11,20
cis-Z- α -bisaboleno epoxido	1676	1680	-	-	-	0,91	0,69	0,70	0,58	0,77	0,66
NI			1,05	3,02	3,30	1,23	1,37	1,39	1,44	1,05	1,25
NI			4,04	5,42	-	7,41	5,83	5,95	4,87	8,01	6,73
NI			0,85	-	-	1,31	1,18	1,12	1,13	1,30	1,19

*IK cal - Índice de Kovats calculado

*IK lit - Índice de Kovats literatura - Adams; 1995.

Tabela 3: Constituintes químicos presentes no óleo essencial de folhas de goiabeira (*Psidium guajava*) submetidas a secagem à sombra colhidas na época das chuvas jan/14.

COMPOSTO	KI obs*	KI Lit*	Área (%) Secagem sombra jan/14								
			Fresca	3h	6h	12h	24h	48h	96h	192h	384h
Limoneno	1024	1026	3,67	8,12	8,86	7,79	2,71	3,5	1,21	6,89	6,88
1,8-cineol	1026	1027	0,1	0,13	0,07	-	-	-	-	0,09	-
α -copaeno	1374	1374	0,32	0,23	0,27	0,25	0,23	0,24	0,26	0,27	0,18
trans-cariofileno	1419	1417	18,9	14,17	13,87	13,83	13,09	13,69	13,8	13,13	9,04
α -humuleno	1454	1452	18,41	16,57	14,55	14,61	14,39	13,75	14,98	11,92	10,21
4,11-selinadieno	1475	1473	0,29	0,21	0,2	0,28	0,2	0,2	0,18	0,96	-
γ -muuroleno	1478	1478	1,3	0,95	0,96	0,95	0,95	0,93	1,04	0,57	0,77
Aromadendreno	1488	1496	12,08	9,16	9,05	9,1	9,34	9,32	-	-	8,39
α -selineno	1497	1498	11,39	8,49	8,25	8,32	8,54	8,49	9,3	8,97	7,3
α -muuroleno	1501	1500	-	-	-	-	-	-	-	0,17	-
β -bisaboleno	1509	1505	-	-	-	-	-	-	0,2	0,18	0,16
α -panasinseno	1517	1518	0,34	0,24	8,25	0,23	0,24	0,24	0,28	0,26	0,22
trans-Nerolidol	1566	1561	2,91	2,49	1,96	1,94	2,33	2,25	-	-	-
cis-nerolidol	1567	1565	-	-	-	-	-	-	2,29	2,26	2,22
Cariofileno álcool	1571	1570	-	0,19	0,19	0,22	0,22	0,24	-	-	-
Oxido de cariofileno	1585	1582	3,42	4,41	4,73	4,85	5,46	5,6	5,03	5,02	5,95
α -Humuleno epóxido II	1612	1609	2,37	3,66	3,77	3,83	4,16	4,44	4,05	3,6	4,75
Longipineno epóxido	1620	1619	0,97	1,5	1,48	1,53	1,69	1,77	1,63	1,39	1,63
epi- α muurolol	1639	1640	3,08	-	-	-	-	-	-	-	-
α -cadinol	1651	1652	1,07	1,09	1,17	1,25	1,44	1,4	0,55	0,55	0,51
Selin-11-en-4 α -ol	1662	1658	8,75	9,44	9,59	10,14	11,83	11,49	11,6	11,31	12,52
cis-Z- α -bisaboleno epóxido	1676	1680	-	-	-	-	-	-	1,34	1,39	1,83
Ni			1,05	1,05	1,1	1,1	1,33	1,25	1,32	1,32	1,42
			4,04	6,41	6,99	7,34	8,67	8,35	7,78	7,26	10,1
			3,081	3,87	3,92	4,28	4,5	4,6	4,45	4,58	5,65

*IK cal – Índice de Kovats calculado.

*IK lit – Índice de Kovats literatura – Adams; 1995.

Com base nas tabelas 2 e 3, pode-se observar que os compostos limoneno, trans-cariofileno, α -humuleno, aromadendreno, α -selineno, óxido de cariofileno e selin-11-en-4 α -ol foram predominantes nos óleos essenciais extraídos das folhas da goiabeira na época das chuvas, tanto para as folhas *in natura* como para as folhas submetidas aos processos de secagem avaliados.

Não houve diferença qualitativa dos compostos majoritários entre os métodos de secagem, entretanto alguns compostos minoritários que apareceram no óleo essencial

das folhas da goiaba submetidas a secagem em estufa não apareceram no óleo essencial das folhas de goiabeira submetidas a secagem à sombra e vice-versa (Tabela 4)

Tabela 4 – Constituintes químicos diferentes identificados nas folhas de goiabeira submetidas a diferentes métodos de secagem na época das chuvas.

Secagem estufa	Secagem natural
γ -gurjuneno	α -muuroleno
β -selineno	cis-nerolido
δ -cadineno	-
epi- α -muurulol	-
α -muurulol	-

Para os óleos essenciais extraídos das folhas *in natura* de *Psidium guajava* na época da seca foram identificados 16 constituintes, correspondendo a 82,4% de compostos identificados divididos entre sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados (Tabela 5 e 6). Os sesquiterpenos hidrocarbonados identificados foram: α -copaeno, trans-cariofileno, α -humuleno, γ -muuroleno, β -selineno, aromadendreno, α -cloveno, α -selineno, β -bisaboleno e δ -cadineno; e os sesquiterpenos oxigenados foram: trans-nerolidol, óxido de cariofileno, epóxido de α -humuleno, epóxido de isoaromadendreno, selin-11-en-4 α -ol e ciz-Z- α -bisaboleno epóxido.

Com base nas tabelas 5 e 6, pode-se observar que os compostos trans-cariofileno, α -humuleno, α -selineno, β -selineno, trans-nerolidol, epóxido de isoaromadendreno e selin-11-en-4 α -ol foram predominantes nos óleos essenciais extraídos das folhas da goiabeira, tanto para as folhas *in natura* como para as folhas submetidas aos processos de secagem avaliados.

Tabela 5: Constituintes do óleo essencial de folhas de goiabeira (*Psidium guajava*) submetidas a secagem em estufa colhidas na época da seca julh/14.

COMPOSTOS	KI obs*	KI Lit*	Área (%) Secagem estufa julh/14								
			Fresca	3h	6h	12h	24h	48h	96h	192h	384h
α -copaeno	1368	1374	0,16	0,12	-	0,14	0,13	0,15	0,16	-	0,11
trans-cariofileno	1415	1417	12,44	10,22	8,07	10,86	10,09	11,15	12,34	11,39	8,24
α -humuleno	1451	1452	14,74	13,46	11,46	14,46	13,09	13,58	14,70	14,45	12,30
β -sataleno	1454	1457	-	-	-	-	0,11	0,12	0,14	-	-
Aromadendreno	1461	1463	0,14	0,23	-	-	-	-	-	-	-
α -Cloveno	1468	1468	0,29	-	-	-	-	-	-	-	-
4,11-selinadieno	1470	1473	-	0,75	0,63	0,78	0,74	0,82	0,87	0,86	0,71
γ -muuroleno	1471	1478	0,92	-	-	-	-	-	-	-	-
β -selineno	1484	1489	11,65	9,47	7,96	10,32	10,07	10,64	11,19	10,81	8,89
α -selineno	1493	1498	9,93	7,98	6,93	8,57	8,39	8,86	9,38	9,09	7,31
α -muuroleno	1495	1500	-	-	-	-	0,16	0,17	0,17	-	-
β -bisaboleno	1503	1505	0,19	0,18	-	-	-	0,18	0,19	-	0,20
α -panasinseno	1511	1518	-	-	-	-	-	-	-	0,14	-
δ -cadineno	1517	1524	0,65	0,80	0,72	0,78	0,74	0,78	0,77	0,80	1,11
trans-nerolidol	1563	1561	2,87	2,84	3,05	2,79	3,16	2,86	2,66	3,38	2,89
cariofileno álcool	1566	1570	-	-	-	-	-	0,28	0,26	-	-
óxido de cariofileno	1580	1582	0,86	1,15	1,15	1,20	1,00	0,97	0,90	0,92	1,20
Ledol	1600	1602	-	0,44	0,47	-	-	-	-	-	-
α -Humuleno epoxido II	1608	1608	0,55	-	0,67	-	0,62	-	-	1,68	-
longipineno epoxido	1619	1619	-	-	-	-	-	-	-	-	0,72
Epóxido de isoaromadendreno	1615	1612	8,77	11,80	13,29	-	10,93	10,12	9,50	-	5,21
Aromadendreno epoxido I	1634	1639	-	-	-	0,58	-	-	-	-	-
α -Muurolol	1646	1644	-	0,94	1,05	1,38	0,46	0,46	0,44	1,36	-
α -cadinol	1651	1653	-	-	-	-	-	-	-	10,26	-
Selin-11-en-4 α -ol	1659	1658	10,52	10,98	13,56	10,23	11,86	11,16	10,48	12,50	13,07
Aromadendreno óxido I	1672	1672	-	1,06	1,90	0,58	1,59	1,52	1,43	-	-
Aromadendreno óxido II	1680	1678	-	1,35	1,57	0,38	1,30	1,21	1,34	0,50	1,38
cis-Z- α -Bisaboleno epoxido	1698	1680	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
NI			4,81	6,25	6,40	5,92	5,95	5,79	5,18	5,19	4,61
			1,75	6,62	6,79	6,12	6,03	5,60	5,05	5,50	1,27
			1,26	2,23	2,63	-	2,10	1,22	1,14	1,29	-

*IK cal – Índice de Kovats calculado.

*IK lit – Índice de Kovats literatura – Adams; 1995.

Tabela 6: Constituintes do óleo essencial de folhas de goiabeira (*Psidium guajava*) submetidas a secagem à sombra colhidas na época da seca julho/14.

COMPOSTO	IK obs*	KI Lit*	Área (%) Secagem sombra julh/14								
			Fresca	3h	6h	12h	24h	48h	96h	192h	384h
α -copaeno	1368	1374	0,16	0,13	0,14	0,10	0,10	0,11	0,13	0,10	0,12
trans-cariofileno	1415	1417	12,44	11,13	12,06	8,70	8,71	8,46	9,06	8,24	9,35
α -humuleno	1451	1452	14,74	15,35	16,62	13,62	12,81	13,19	13,72	12,67	14,56
Aromadendreno	1461	1463	0,14	-	-	-	-	-	-	0,14	0,25
α -Cloveno	1468	1468	0,29	-	-	-	-	-	-	0,22	0,78
4,11-selinadieno	1470	1473	-	0,82	0,91	0,69	0,66	0,69	0,72	-	-
γ -muuroleno	1471	1478	0,92	-	-	-	-	-	-	0,69	-
β -selineno	1484	1489	11,65	10,11	11,04	8,57	8,54	9,17	9,45	8,95	10,09
α -selineno	1493	1498	3,93	8,70	9,55	7,24	7,08	7,71	7,90	7,53	8,76
β -bisaboleno	1503	1505	0,19	-	-	-	0,16	0,17	0,18	-	0,18
α -panasinseno	1511	1518	-	0,19	0,29	0,17	-	-	-	-	-
δ -cadineno	1517	1524	0,20	0,27	0,10	0,27	-	-	-	-	-
trans-nerolidol	1563	1561	2,87	-	-	-	-	-	-	2,88	3,02
cis-nerolidol	1567		-	3,14	2,97	3,35	3,43	2,91	2,82	-	-
óxido de cariofileno	1580	1582	0,16	5,32	4,94	5,68	6,17	5,71	5,77	5,94	5,39
α -Humuleno epoxido II	1608	1608	1,75	2,10	1,92	2,47	6,77	6,68	6,86	6,83	6,54
Globulol			-	-	-	-	-	-	-	-	0,63
Epóxido de isoaromadendreno	1615	1612	8,77	11,80	13,29	-	10,93	10,12	9,50	-	5,21
Selin-11-en-4 α -ol	1659	1658	10,52	10,98	10,26	12,19	12,23	12,39	11,10	12,15	10,82
Aromandendreno óxido II	1680	1678	-	1,19	1,06	1,41	1,70	1,63	1,52	-	-
cis-Z- α -Bisaboleno epoxido	1698	1680	0,20	-	-	-	-	-	-	-	-
NI			8,77	10,49	9,50	12,73	12,37	12,82	11,93	12,81	-
			4,72	-	-	-	1,02	0,98	0,96	1,03	-

*IK cal – Índice de Kovats calculado.

*IK lit – Índice de Kovats literatura – Adams; 1995.

Assim como na época das chuvas, na época da seca também não houve diferença qualitativa entre compostos majoritários quando comparados os métodos de secagem utilizados, contudo alguns compostos minoritários identificados no óleo essencial das folhas de goiabeira submetidas a secagem em estufa não apareceram no óleo essencial das folhas de goiabeira submetidas a secagem à sombra e vice-versa (Tabela 7).

Tabela 7 – Constituintes químicos diferentes identificados nas folhas de goiabeira submetidas a diferentes métodos de secagem na época da seca.

Secagem estufa	Secagem natural
β -santaleno	Globulol
α -muuroleno	cis-nerolido
Ledol	-
epóxido longipineno	-
epóxido de aromadendreno I	-
α -muurulol	-
α -cadinol	-
óxido de aromadendreno I	-

Os metabólitos especiais identificados no óleo essencial da espécie estudada são semelhantes aos metabólitos presentes no óleo essencial extraídos das folhas de goiabeira publicados anteriormente. CRAVEIRO et al. (1981), caracterizaram o óleo essencial de folhas de goiabeira e identificaram 21 compostos, dentre os quais, citam-se α -humuleno, trans-cariofileno e selin-11-en-4 α -ol. CUELLAR et al. (1984) e PINO et al. (2001), realizando o mesmo trabalho de caracterização encontraram o 1,8-cineol, óxido de cariofileno e o limoneno, entre outros. As diferenças encontradas na composição do óleo essencial extraído das folhas da goiabeira podem acontecer em decorrência de fatores ambientais, da época do ano, do horário da coleta e do processo de secagem a que as folhas foram submetidas antes da extração do óleo essencial (OLIVEIRA et al., 2011).

Os metabólitos secundários representam um meio de comunicação química entre as plantas e o ambiente e os estímulos recebidos pela planta vindos do ambiente em que a planta se encontra, podem influenciar no direcionamento da rota metabólica, ocasionando na biossíntese de diferentes compostos, assim a composição química e o teor dos óleos essenciais podem sofrer alterações durante as estações do ano (MORAIS, 2009).

O óleo essencial extraído de folhas de *P. guajava* apresentou variação qualitativa na composição química em relação as duas épocas de coleta das folhas, chuva e seca. Sendo o limoneno, trans-cariofileno, α -humuleno, aromadendreno, α -selineno, óxido de cariofileno e selin-11-en-4 α -ol os compostos majoritários

encontrados no óleo na época das chuvas, enquanto os compostos majoritários encontrados no óleo na época da seca foram trans-cariofileno, α -humuleno, α -selineno, β -selineno, trans-nerolidol, epóxido de isoaromadendreno e selin-11-en-4 α -ol. Os óleos essenciais extraídos em ambas as épocas apresentaram alguns compostos majoritários semelhantes e alguns compostos minoritários distintos. CHAVES (2002) encontrou resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho quando avaliou o efeito da sazonalidade na composição do óleo essencial de folhas de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), os resultados obtidos demonstraram que houve interferência da variação climática sobre a composição química do óleo essencial, os compostos majoritários presentes nas folhas foram o eugenol no período das chuvas e o β -selineno e trans-cariofileno no período da seca.

SILVA et al. (2003), com o objetivo de verificar a influência da época e do horário de coleta sobre o rendimento e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*), realizaram cortes às 8h e 16 h, em agosto de 1999 e janeiro de 2000. Os autores concluíram que a época de colheita influenciou o teor final do óleo essencial, apresentando o óleo essencial colhido em janeiro maior rendimento (2,26%) que o óleo essencial colhido em agosto (1,06%). Não houve influência do horário de coleta em relação à composição do óleo essencial, que apresentou como compostos majoritários o eugenol e o linalol, porém, observou-se redução do teor de linalol no corte efetuado em janeiro (21,24%) quando comparado ao corte de agosto (25,03%). BLANK et al. (2007), ao estudar diferentes horários e épocas de coleta das folhas de citronela de java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), observaram que na época da seca houve redução no conteúdo de limoneno, citronelol, geraniol e farnesol e aumento no conteúdo de citronelal e do neral. Para esta espécie a sazonalidade afetou de forma significativa a composição deste óleo essencial.

Além dos fatores já citados que influenciam o teor e a composição química dos óleos essenciais, o método de secagem da matéria-prima para extração de óleo essencial é um dos fatores mais importantes. Devido a isto, ao se comparar os resultados obtidos neste presente trabalho dos diferentes métodos de secagem com o de folhas *in natura*, mostra que estes tiveram efeito sobre os componentes principais do óleo, apresentando também efeito significativo sobre a sua percentagem, tanto na época das chuvas como na época da seca. Comparadas com as folhas frescas, no mês de janeiro (época das chuvas) as folhas submetidas ao método de secagem natural tiveram a redução de alguns compostos e aumento de outros como pode ser observado na tabela 8.

Tabela 8 – Aumento e redução da concentração dos compostos majoritários dos óleos essenciais extraídos de folhas de goiabeira submetidas aos métodos de secagem na época das chuvas.

Época das chuvas		
Composto	Secagem estufa (%)	Secagem a sombra (%)
Limoneno	5,12↓	3,21↓
Trans-cariofileno	2,8↓	9,86↓
α - humuleno	1,07↓	8,2↓
Aromadendreno	0,96↓	3,69↓
α - selineno	1,07↓	4,09↓
óxido de cariofileno	0,36↓	2,53↑
selin-11-em-4 α -ol	2,44↑	3,77↑

*↑ - aumento.

*↓ - redução.

Apesar da secagem à sombra ter apresentado redução no teor de limoneno menor que a secagem em estufa e aumento nos teores de óxido de cariofileno e selin-11-en-4 α -ol, a secagem em estufa foi o método que apresentou menor alteração na percentagem dos compostos majoritários do óleo essencial de folhas de goiabeira coletadas na época das chuvas.

As folhas colhidas no mês de julho (época da seca), submetidas a secagem natural tiveram a redução na concentração de alguns compostos e aumento de outros como pode ser observado na tabela 9.

Tabela 9 - Aumento e redução da concentração dos compostos majoritários dos óleos essenciais extraídos de folhas de goiabeira submetidas aos métodos de secagem na época da seca.

Época da seca		
Composto	Secagem estufa (%)	Secagem a sombra (%)
Trans-cariofileno	4,2↓	3,09↓
α - humuleno	2,44↓	0,18↓
β -selineno	2,76↓	1,56↓
Epóxido de isoaromadendreno	3,56↓	3,56↓
Selin-11-em-4 α -ol	2,55↑	0,3↓
α -selineno	2,62↓	4,83↑
Trans-nerolidol	0,02↓	0,15↑

*↑- aumento.

*↓ - redução.

Apesar da secagem em estufa ter apresentado o aumento de 2,55% para o selin-11-en-4 α -ol, a secagem natural à sombra apresentou menor redução nos teores dos compostos majoritários além de ter apresentado o aumento de 4,83% para o α -selineno,

sendo assim, esse foi o método de secagem que menos alterou a percentagem dos compostos majoritários do óleo essencial das folhas de goiabeira coletadas na época da seca. Os resultados de ambos os métodos foram confrontados com as folhas *in natura*.

Resultados semelhantes foram encontrados por CARVALHO et al., (2006) ao avaliar o rendimento e a composição química do óleo essencial de *Ocimum basilicum* (manjeriço) submetidos a diferentes temperaturas de secagem por 16 dias, os autores observaram que a maior concentração de linalol, composto majoritário, foi obtido no quinto dia de secagem (86,8%), quando comparada ao material vegetal fresco (45,2%), o menor número de compostos do óleo essencial das folhas foi observado a partir do quinto dia de secagem.

LEMOS (2008) ao estudar a influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Melaleuca altemifolia* concluiu que a secagem provocou aumento significativo no teor de terpinen-4-ol α -terpineol e decréscimo significativo no teor de α -pineno em relação às plantas frescas.

RADUNZ et al., (2002) estudando a influência da temperatura de secagem sobre a composição química do óleo essencial de alecrim-pimenta, observaram que as temperaturas do ar de secagem de 40, 50, 60 e 70°C não afetaram os rendimentos de *p*-cimeno e timol desse óleo essencial em relação ao material fresco; entretanto, o rendimento extrativo de cariofileno aumentou com o incremento na temperatura do ar de secagem. Em estudos de secagem de diversas espécies, realizados por outros autores, também foram observadas modificações nos componentes dos óleos essenciais em função da secagem (BLANK et al., 2005; SOARES et al., 2007).

Ao se observar o teor dos compostos majoritários do óleo essencial de folhas, *in natura*, obtidos tanto na época das chuvas como na época da seca (Tabela 10), pode-se observar que os teores do trans-cariofileno (18,95%), do α -humuleno (18,41%) e do α -selineno (11,39%) foram maiores na época das chuvas do que na época da seca, sendo que apenas o teor do selin-11en-4 α -ol (10,52%) obtido na época da seca foi maior que da época das chuvas. Resultados semelhantes foram encontrados por TAVEIRA et al., (2003) que estudando a composição química do óleo essencial extraídos das folhas, ramos e cascas de *Aniba canelilla* coletados em locais diferentes e concluíram que há mudanças no teor dos dois constituintes majoritários em função da sazonalidade. No período chuvoso, o 1-nitro-2-feniletano alcançou 75% enquanto o metileugenol apresentou teor de 18%. Em contraste, no período seco, apresentaram teor de 39% e 45%, respectivamente.

Tabela 10: Compostos majoritários encontrados na composição química do óleo essencial das folhas de goiabeira coletadas na época das chuvas e da seca.

Época	Compostos (%) do óleo essencial total			
	trans-cariofileno	α -humuleno	α -selineno	selin-11en-4 α -ol
Chuva/jan-2014	18,90	18,41	11,39	8,75
Seca/jul-2014	12,44	14,74	3,93	10,52

Assim, observa-se que há grande diferença em relação ao desempenho das espécies vegetais quando dispostas em diferentes ambientes, sendo particularidade de cada uma a eficiência produtiva de princípios ativos. Ainda, deve-se ressaltar que a época em que se obtém maior produção de óleo essencial pode não ser a época de maior produção do composto químico de interesse.

5.3 Exemplos de identificação dos constituintes majoritários do óleo essencial das folhas de *Psidium guajava* L

Na literatura existem trabalhos que mostram que o óleo essencial extraído das folhas de goiabeira possui substâncias semelhantes as encontradas no óleo essencial deste presente estudo. CRAVEIRO et al. (1981), CUELLAR et al. (1984) e PINO et al. (2001) ao estudarem o óleo essencial de folhas de goiabeira identificaram 21 compostos, dentre os quais se pode citar α -humuleno, 1,8-cineol, óxido de cariofileno e o limoneno, entre outros. A identificação dos compostos foi feita através da comparação dos espectros obtidos com os da biblioteca (Wiley 7^o edição) e dos IK calculados com os da literatura (Adams, 1995).

O cromatograma do óleo essencial de folhas de goiabeira *in natura* coletadas na época das chuvas apresentou 20 picos (Figura 11). Dentre os compostos identificados estão o limoneno, trans-cariofileno, α -humuleno, α -selineno e o óxido de cariofileno, na concentração de 3,7%, 18,98%, 18,41%, 11,39%, 3,43% respectivamente, sendo encontrado também o selin-11en-4 α -ol com concentração de 8,76%. (Tabela 11).

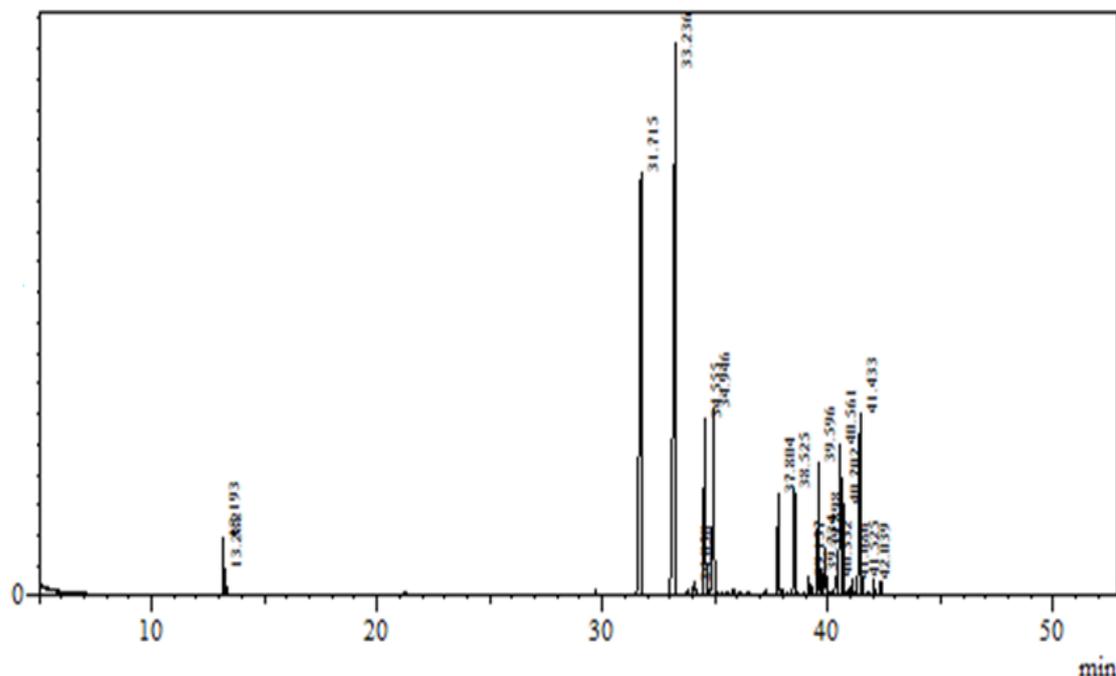


Figura 11. Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira *in natura* coletadas na época das chuvas.

Tabela 11: Compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de goiabeira *in natura* coletadas na época das chuvas.

Tempo de retenção (min)	IK ^a	IK ^b	Composto	%
31,715	1419	1417	trans-cariofileno	18,98
33,236	1454	1454	α -humuleno	18,41
34,555	1488	1496	aromadendreno	12,09
34,946	1497	1498	α -selineno	11,39
41,443	1662	1658	selin-11 en-4 α -ol	8,76
13,193	1024	1026	limoneno	3,70
38,525	1585	1582	óxido de cariofileno	3,43

*a – Índice de Kovats calculado

*b – Índice de Kovats tabelado – Adams; 1995

O trans-cariofileno (Figura 12), com tempo de retenção de 31,715 minutos e concentração de 18,98%, foi identificado através da comparação do IK calculado com o da literatura e pelo espectro de massas obtido com o da literatura (Figura 13). Este revela a presença do pico m/z 93, característico de olefinas (SILVERSTEIN E WEBSTER, 2000).

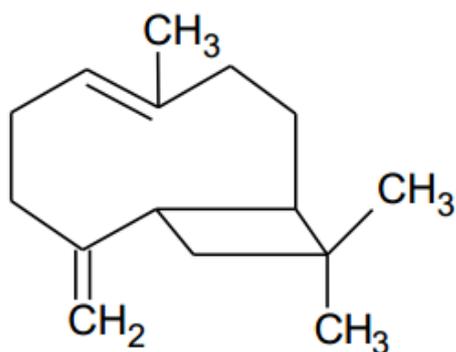


Figura 12: Estrutura química do trans-cariofileno.

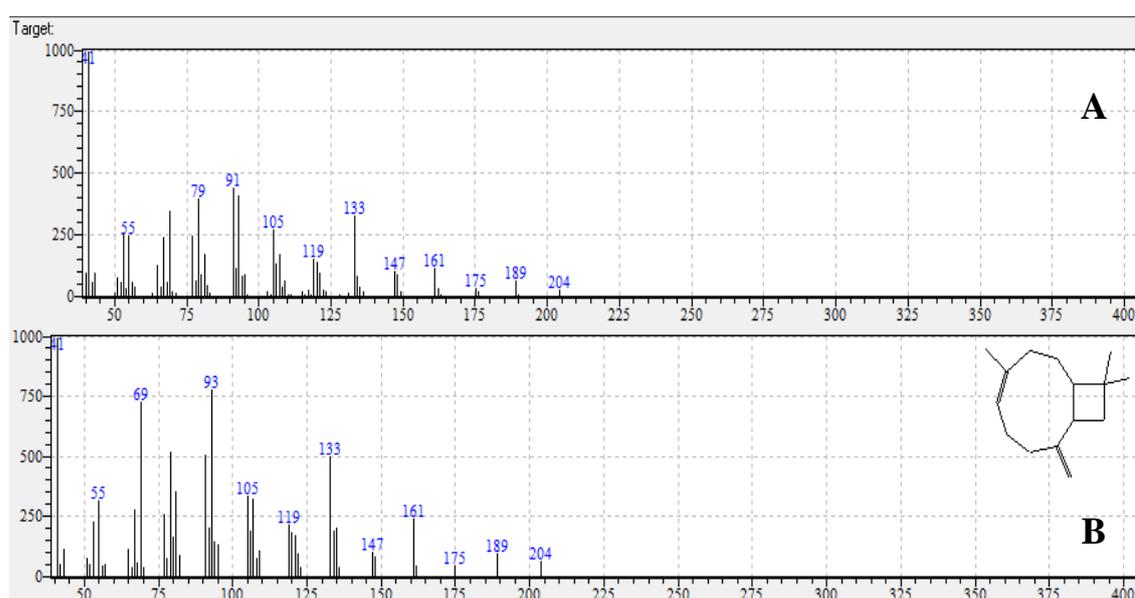


Figura 13 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 31,715 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do trans-cariofileno.

MEVY et al., ao estudarem o óleo essencial da *Lippia chevalieri* cujo constituinte majoritário é o trans-cariofileno, 27% nas folhas e 30% nas flores, observaram que o óleo das folhas apresentou atividade antibacteriana (para *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus hirae*) e antifúngica (para *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans*), e que o óleo das flores apresentou atividade semelhante. Vale ressaltar que a *Lippia chevalieri* já é utilizada tradicionalmente no tratamento de doenças respiratórias de origens bacterianas e fúngicas.

CASTRO (2004), avaliando a atividade inseticida do óleo essencial da planta mil folhas (*Achillea millefolium* L.), encontrou em sua constituição, como um dos compostos majoritários, o trans-cariofileno, na concentração de 3,52%.

O α -humuleno (Figura 14) com tempo de retenção de 33,236 minutos e com concentração de 18,41% foi identificado através do IK próximo ao da literatura e comparação de seu espectro de massas encontrado na biblioteca (Figura 15).

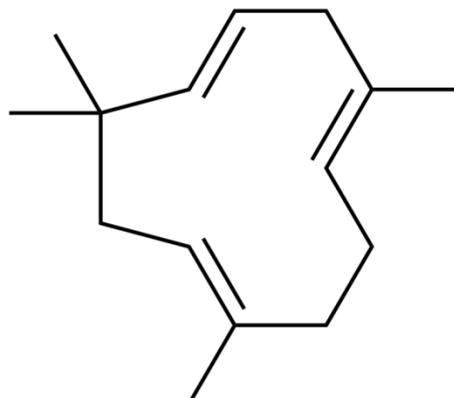


Figura 14: Estrutura química do α -humuleno.

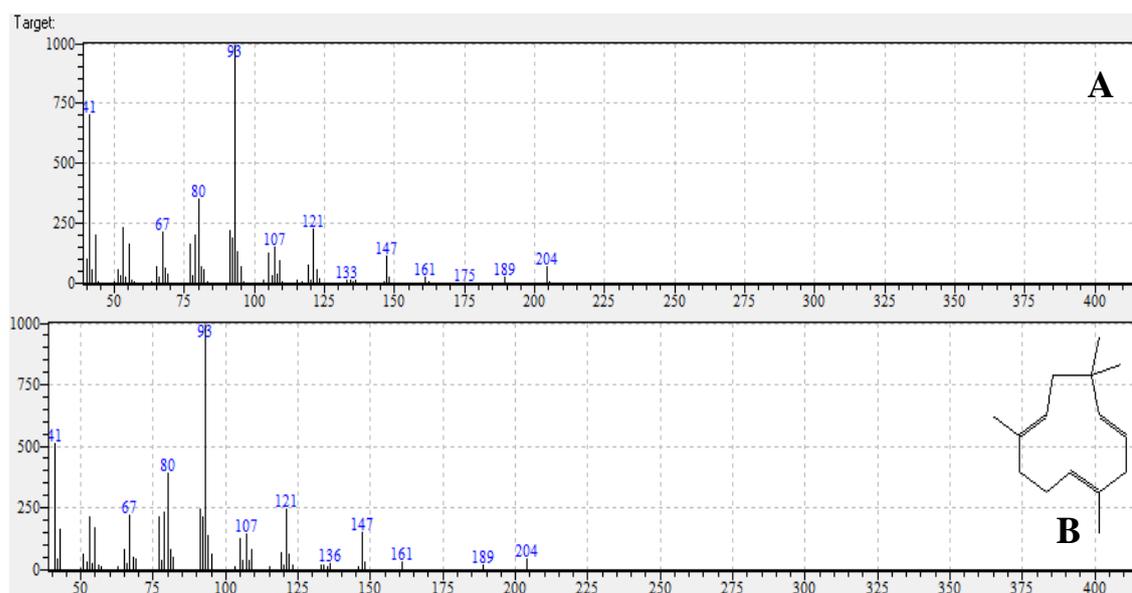


Figura 15 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 33,236 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do α -humuleno.

Segundo DEUS et al. (2011) o efeito fungicida do óleo essencial de copaíba depende da espécie fúngica que se deseja controlar e pode estar relacionado às concentrações de α -humuleno, β -cariofileno, entre outros compostos presentes no óleo essencial, que após a destilação ocorre o aumento significativo da concentração de óxido de cariofileno. FERNANDES et al. (2007) estudando o α -humuleno derivado a partir do óleo essencial de *C.verbenacea*, concluiu que este composto pode representar importante ferramenta para a gestão e / ou tratamento de doenças inflamatórias.

O aromadendreno (Figura 16), com tempo de retenção de 34,555 minutos e com concentração de 12,09%, foi identificado através do IK próximo ao da literatura e pela comparação do seu espectro de massas com o encontrado na biblioteca (Figura 17).

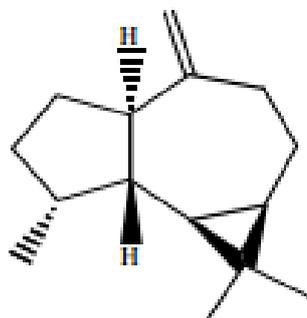


Figura 16: Estrutura química do aromadendreno.

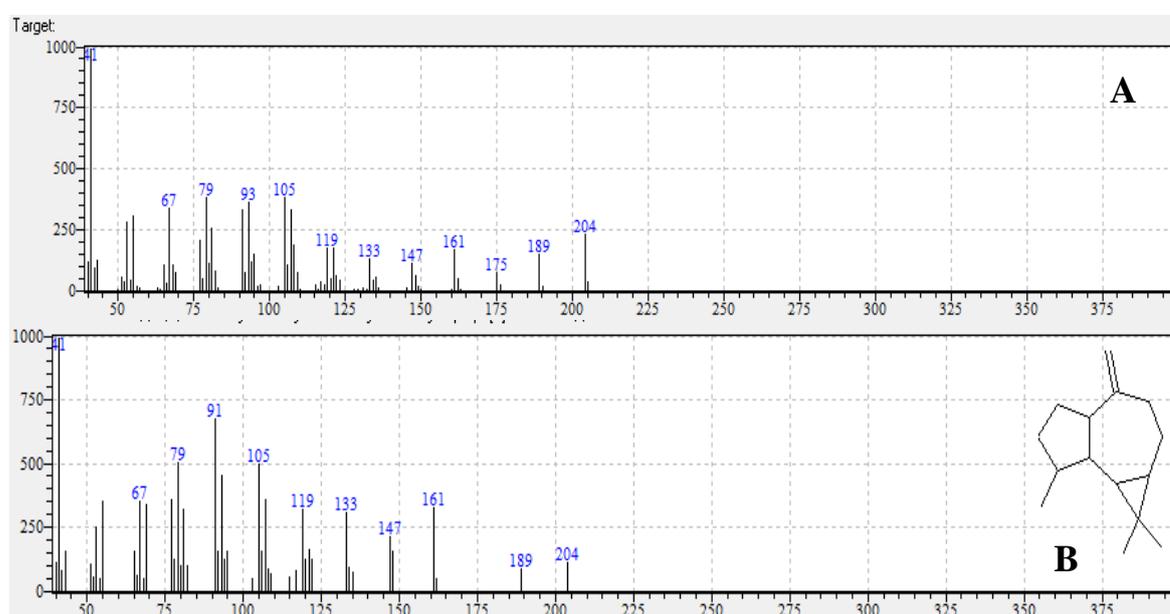


Figura 17: Espectro de massas para o tempo de retenção de 34,555 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica do aromadendreno.

FREITAS et al. (2015) ao avaliarem o potencial fungicida do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* observaram que seu óleo essencial inibiu em 100% o crescimento das espécies de *Fusarium*, e apresentou em sua composição como compostos nerolidol, espatulenol, δ -cadineno, aromadendreno (variando de 5 a 25% nesta espécie), entre outros, e estes compostos podem estar relacionados com a atividade antifúngica deste óleo (FERRONATTO et al., 2007).

O α -selineno (Figura 18), com tempo de retenção de 34,946 minutos e concentração de 11,39%, foi identificado através do IK calculado próximo ao da literatura e pelo seu espectro de massas (Figura 19) encontrado com o da biblioteca.

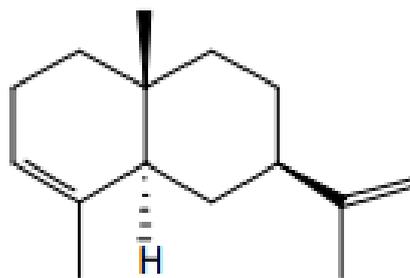


Figura 18 – Estrutura química do α -selineno.

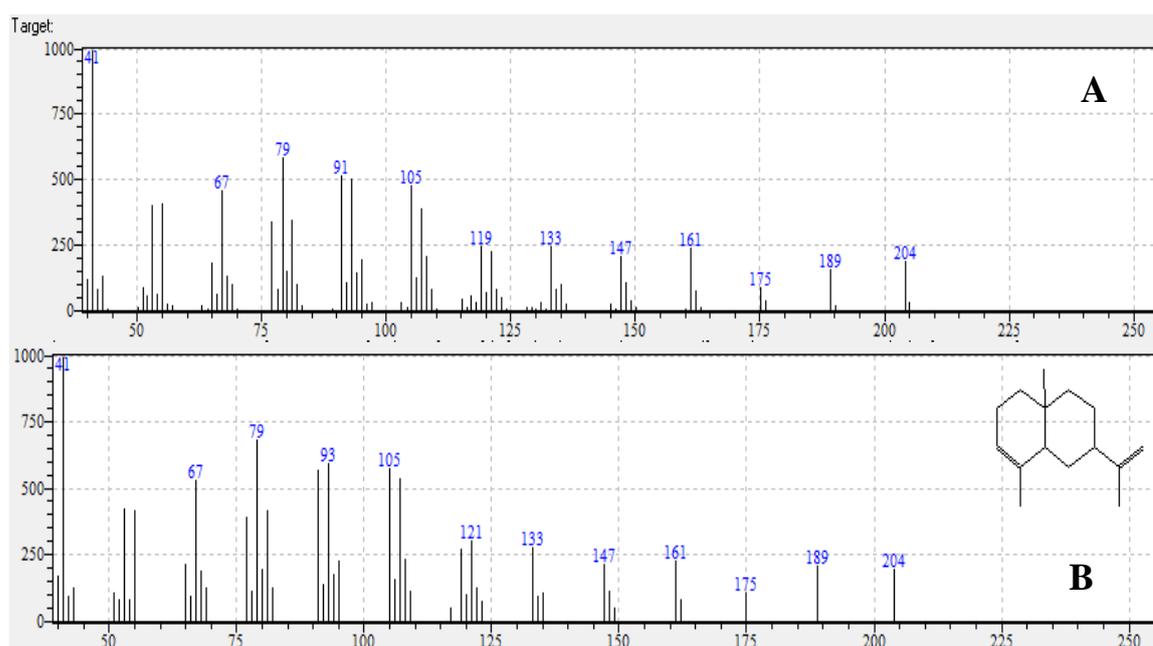


Figura 19 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 34,946 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica para o α -selineno.

SANTOS et al., 2014 ao estudarem a ação fungicida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi, obtiveram resultados com inibição de 100% do desenvolvimento sobre os fitopatógenos estudados, os fungos *C. gloeosporioides* e *L. theobromae*, essa ação fungicida segundo os autores pode ser por causa da composição química, e como compostos majoritários da composição química do óleo essencial das folhas desta planta se encontra o α -selineno (1,38%).

O selin-11-en-4- α -ol (Figura 20) pode ser identificado pelo seu tempo de retenção em 41,443 minutos, pelo IK calculado próximo ao da literatura e pelo seu espectro de massas obtido comparado com o da biblioteca (Figura 21), com concentração de 8,76%.

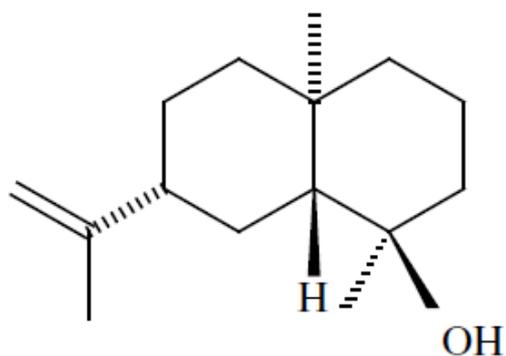


Figura 20: Estrutura química do selin-11-en-4-ol.

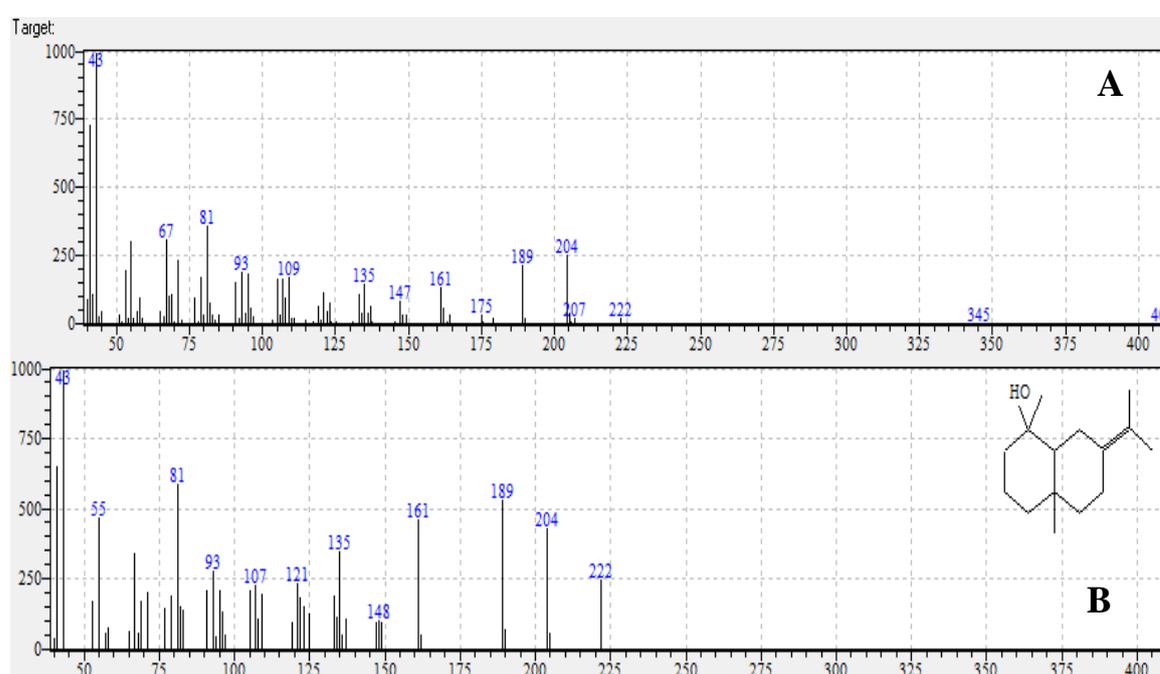


Figura 21 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 41,443 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica para o selin-11-en-4-ol.

O limoneno (Figura 22), com tempo de retenção (Tr) 13,193 minutos e concentração de 3,70%, foi identificado de acordo com seu espectro de massas (Figura 23) encontrado na biblioteca. Apresenta o fragmento correspondente ao pico base em m/z 68 (Figura 24), resultante da movimentação de elétrons no ciclohexano. A figura 25 apresenta a fragmentação que gera o sinal correspondente ao íon em m/z 93 característico de alquenos (SILVERSTEIN E WEBSTER, 2000).

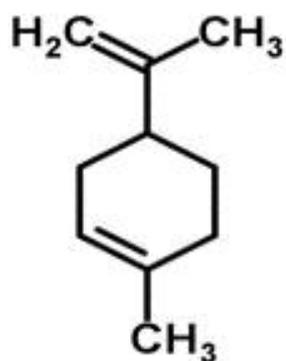


Figura 22: Estrutura química do limoneno

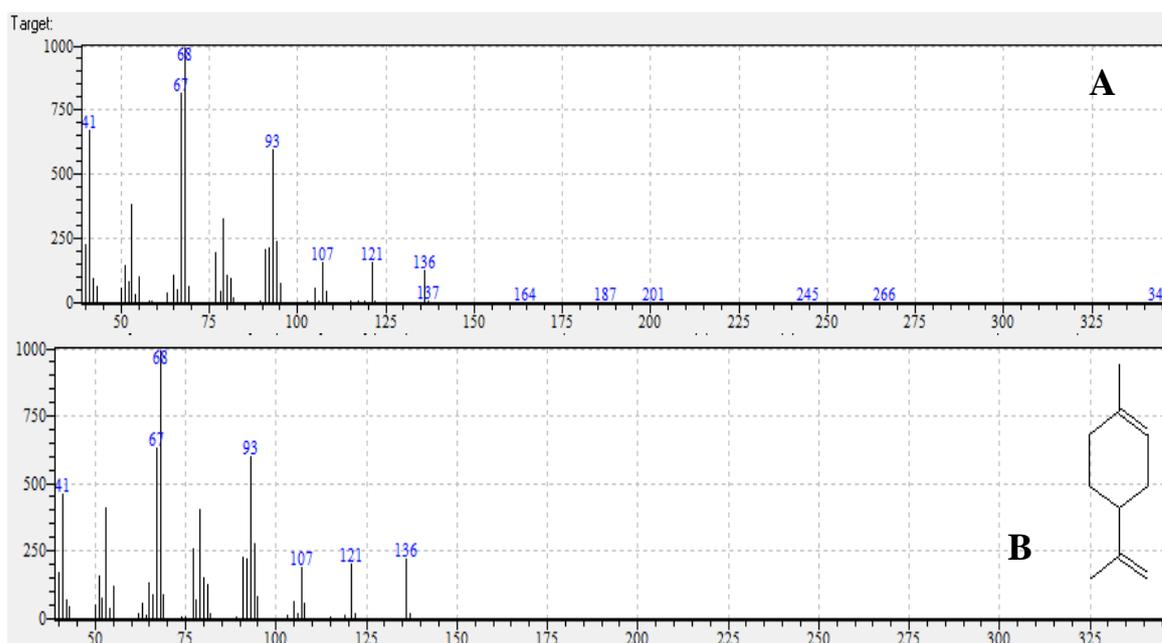


Figura 23 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 13,193 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica para o limoneno.

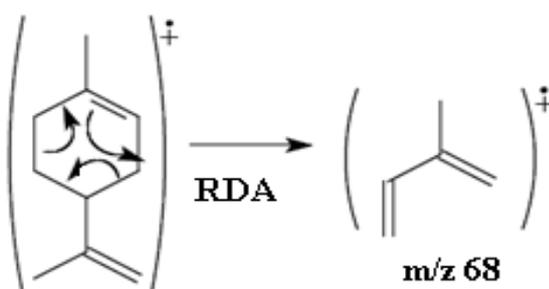


Figura 24: Fragmentação que resulta no pico-base do limoneno.

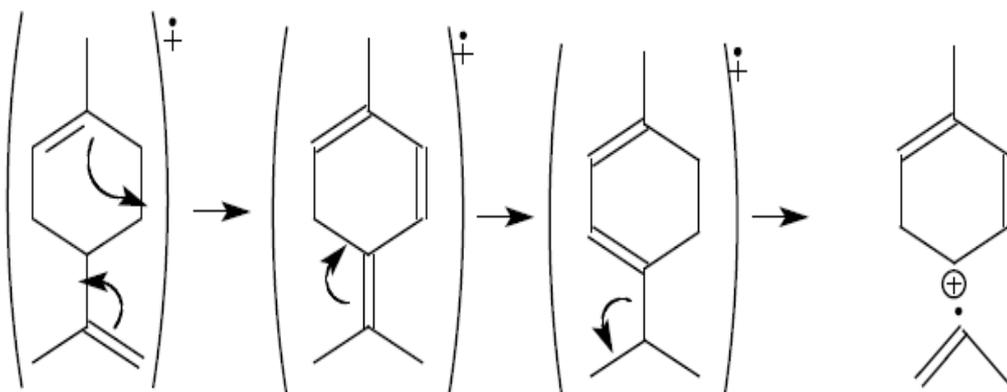


Figura 25: Fragmentação do limoneno levando a formação do fragmento m/z 93.

O limoneno é um terpeno amplamente estudado que apresenta diversas atividades como bactericida, fungicida, inseticida, nemacida, anticancerígenas e anticonvulsivante (VIEGAS JÚNIOR, 2003; PASSOS et al., 2009; SCHUCK et al., 2001). SHARMA & TRIPATHI (2006) estudaram a atividade fungicida do óleo essencial das cascas de *Citrus sinensis* sobre 10 patógenos pós-colheita e observaram a ocorrência de atividade fungicida deste óleo, concluindo que esse efeito seria por causa do limoneno e ao sinergismo dos vários compostos presentes no óleo essencial.

O óxido de cariofileno (Figura 26) com tempo de retenção de 38,525 minutos e concentração de 3,43% pode ser identificado com o IK calculado próximo ao encontrado na literatura e pelo seu espectro de massas encontrado com o da biblioteca (Figura 27).

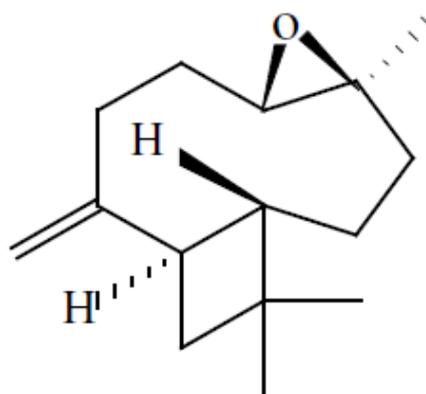


Figura 26: Estrutura química do óxido de cariofileno.

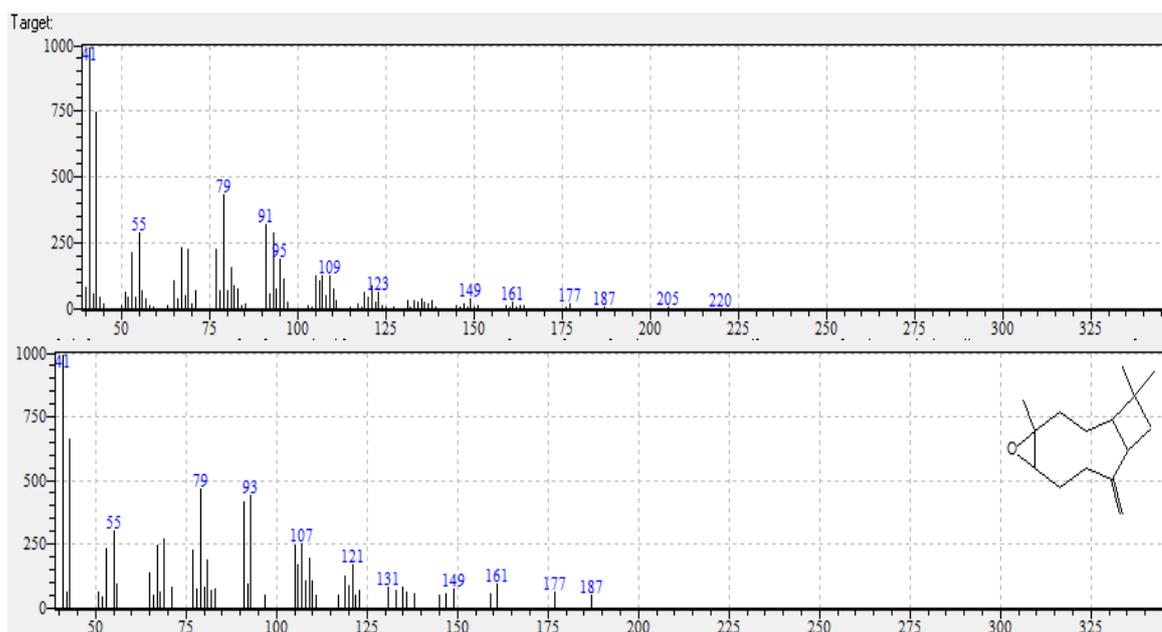


Figura 27 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 38,525 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica para o óxido de cariofileno.

FREIRE (1996) e KUMARI et al. (2003) relataram a ação antifúngica do extrato das folhas de *Vernonia scorpioides*, estes autores acreditam que esse potencial antifúngico esteja ligado a composição química deste extrato que apresentou entre seus compostos majoritários o óxido de cariofileno (13,6%).

O cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira *in natura* coletadas na época da seca apresentou 28 picos (Figura 28). Todos os compostos foram identificados através da comparação dos IK calculados com os da literatura (Adams, 1995) e através da semelhança de seus espectros de massas com os da biblioteca Wiley 7ª edição (Tabela 12).

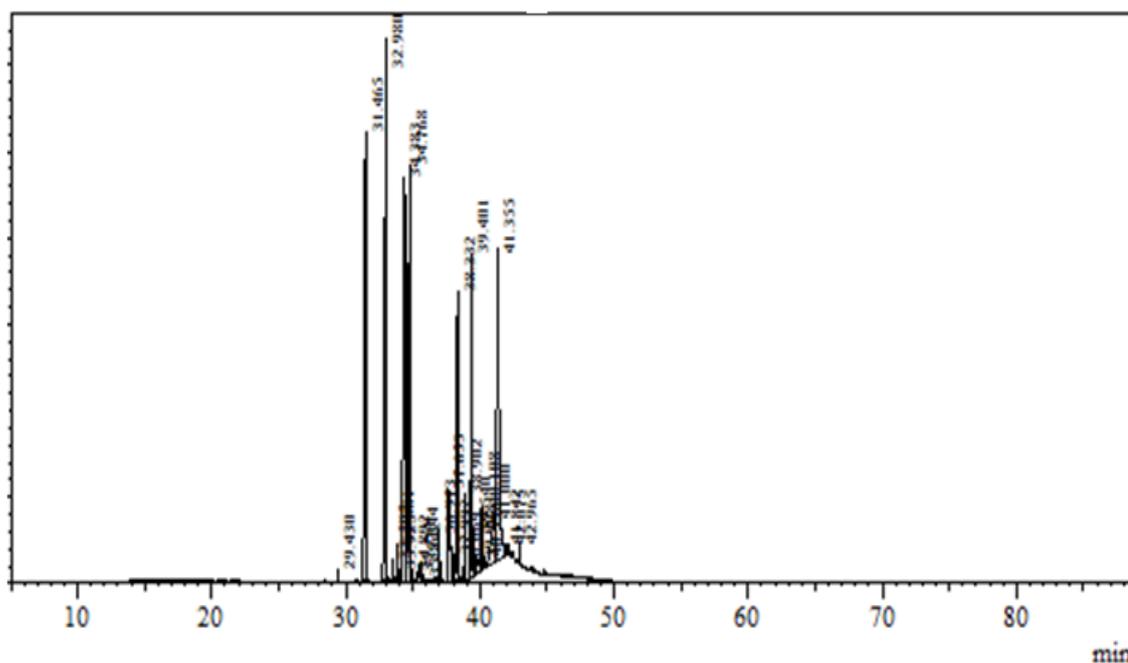


Figura 28. Cromatograma do óleo essencial das folhas de goiabeira *in natura* coletadas na época da seca.

Tabela 12: Compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de goiabeira *in natura* coletadas na época da seca.

Tempo de retenção (min)	IK ^a	IK ^b	Composto	%
32,980	1451	1452	α -humuleno	14,74
31,465	1415	1417	trans-cariofileno	12,44
34,383	1484	1489	β-selineno	11,65
41,443	1659	1658	selin-11en-4 α -ol	10,52
34,768	1493	1498	α -selineno	9,93
40,108	1615	1612	epóxido de isoaromadendreno	8,77
37,653	1563	1561	trans-nerolidol	2,87

*a – Índice de kovats calculado

*b – Índice de kovats tabelado – Adams (1995)

Os compostos listados em vermelho foram os que apareceram somente na composição química do óleo essencial das folhas de goiabeira *in natura* na época da seca. O β -selineno (Figura 29) apresentou tempo de retenção de 34,383 minutos com uma porcentagem de 11,65% sendo identificado pela comparação do seu espectro de massas (Figura 30) com a biblioteca.

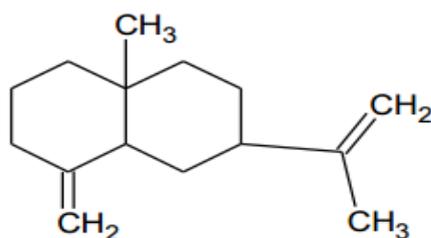


Figura 29: Estrutura química do β-selineno.

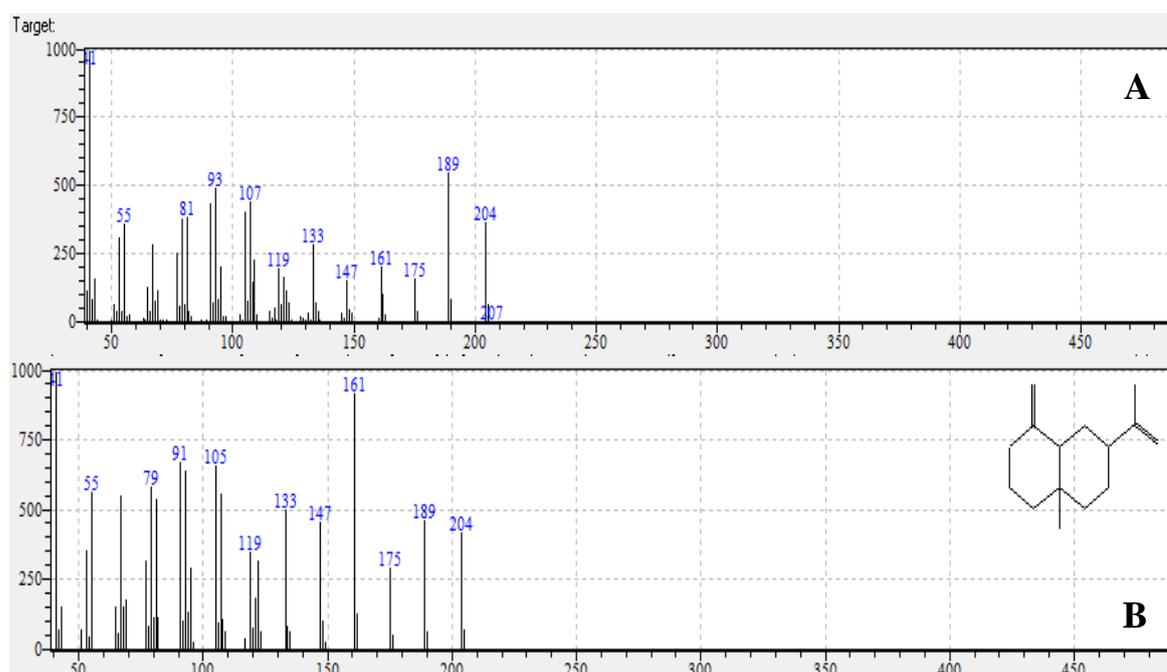


Figura 30 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 34,383 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica para o β-selineno.

RODRIGUES et al. (2006) estudando o potencial antifúngico de *Ocimum gratissimum* constatou grande potencial dessa planta contra o fungo *Bipolaris sorokiniana* confirmando sua ação antifúngica, segundo o autor esse potencial antifúngico pode estar ligado a composição química do óleo essencial desta planta que possui como compostos majoritários o eugenol, 1,8-cineol e o β-selineno.

O epóxido de isoaromadendreno (Figura 31) foi identificado com tempo de retenção de 40,108 minutos, sendo identificado pela comparação do seu espectro de massas (Figura 32) com a biblioteca, apresentando a concentração de 8,77%.

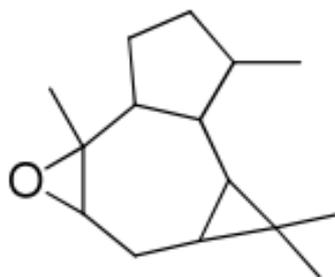


Figura 31: Estrutura química do epóxido de isoaromadendreno.

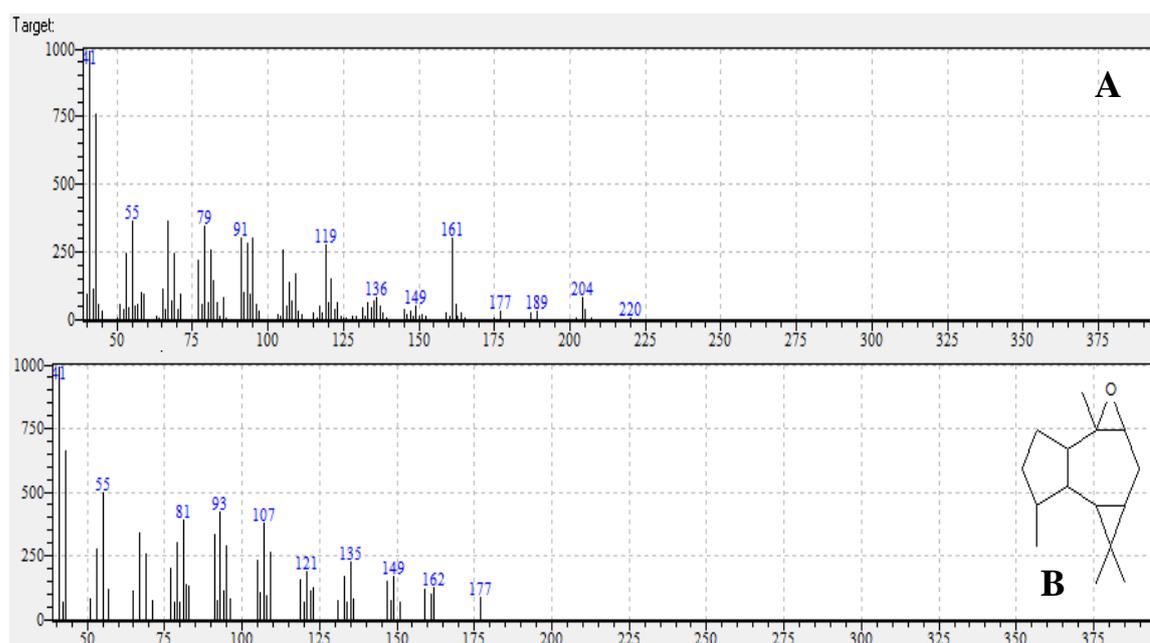


Figura 32 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 40,108 minutos; B) Espectro de massas da biblioteca eletrônica para o epóxido de isoaromadendreno.

Não foi encontrado relatos na literatura sobre o potencial antifúngico do epóxido de isoaromadendreno.

O trans-nerolidol (Figura 33) foi identificado pelo tempo de retenção 37,653 minutos e pela comparação do seu espectro de massas (Figura 34) com o da biblioteca, apresentando concentração de 2,87%. Este composto é um álcool terciário que fragmenta facilmente com quebra da ligação C-C vizinha do átomo de oxigênio resultando no íon com m/z 195. Este é estabilizado por ressonância, que se decompõe para dar outro íon moderadamente intenso m/z 69 (Figura 35). O pico em m/z 93 é produzido por isomerização em um dos lados da molécula seguida de clivagem alílica (Figura 36) (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000).

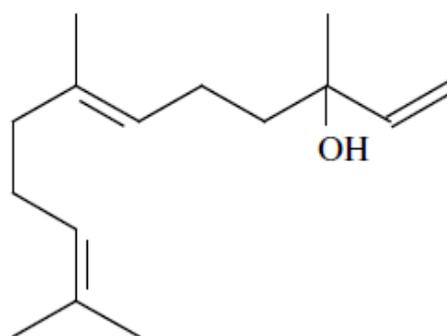


Figura 33: Estrutura química do trans-nerolidol.

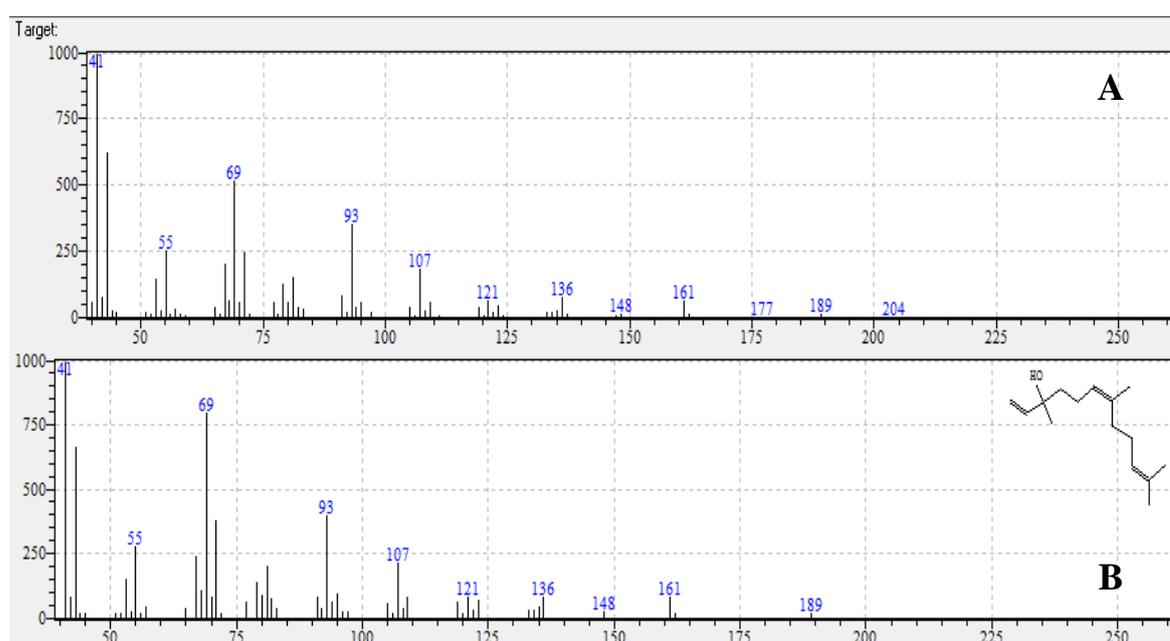


Figura 34 – A) Espectro de massas para o tempo de retenção de 37,653 minutos; B) Espectro de massa da biblioteca eletrônica para o trans-nerolidol.

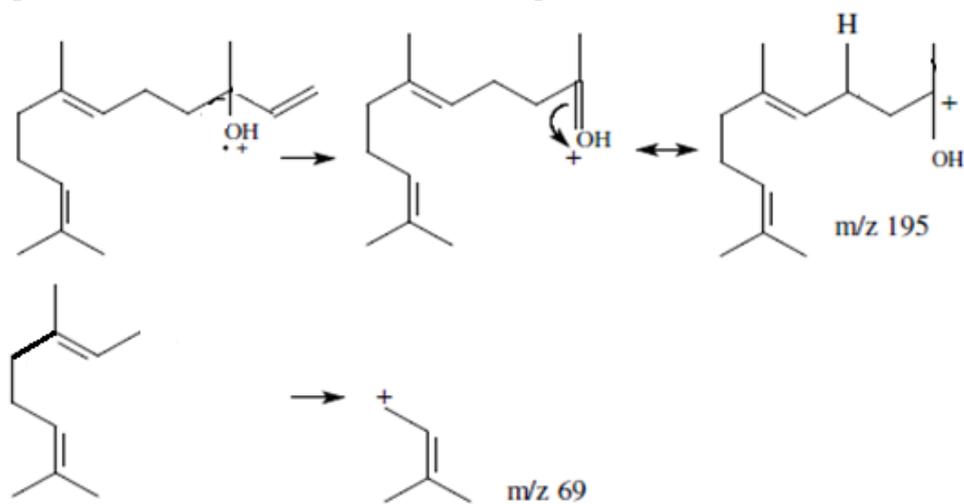


Figura 35: Fragmentação do trans-nerolidol, levando à formação dos fragmentos m/z 69.

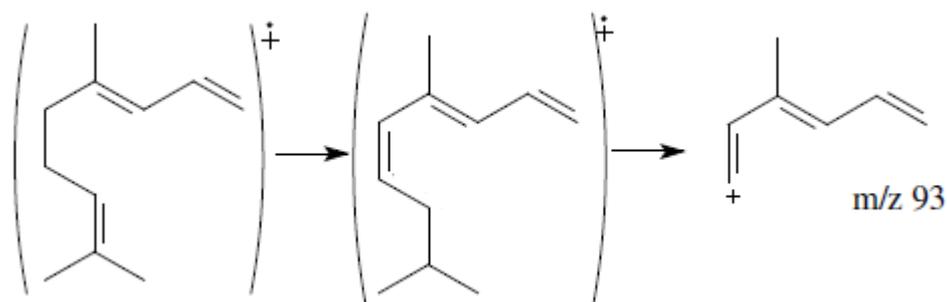


Figura 36: Fragmentação do trans-nerolidol, levando à formação dos fragmentos m/z 93.

O óleo essencial da casca seca de *Citrumelo Swingle* apresentou atividade antifúngica sobre fungos *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum musae*, esse fato pode estar relacionado a composição química deste óleo essencial, que possui como constituintes majoritários os monoterpenos, limoneno (46,22%) e mirceno (23,94%), e o álcool sesquiterpeno, trans-nerolidol (6,60%), que podem atuar individualmente ou por meio de sinergismo contra esses fitopatôgenos (TEIXEIRA et al., 2012).

O presente trabalho demonstra que os principais componentes do óleo essencial de folhas de *Psidium guajava in natura* variam de acordo com a época de coleta (chuva e seca), como também apresenta variação da área percentual relativa de seus picos no cromatograma. O óleo essencial obtido na época das chuvas se diferencia do óleo obtido na época da seca pela presença do limoneno, aromadendreno e óxido de cariofileno, já o óleo essencial obtido na época da seca se diferencia do da época das chuvas pela presença do β -selineno, trans-nerolidol e o epóxido de isoaromadendreno, confirmando a influência da sazonalidade. Com as análises de CG-MS foi possível confirmar os dados da literatura sobre a composição química do óleo essencial das folhas *in natura* de goiabeira.

Estas variações (Tabela 13) são justificadas, pois a composição dos óleos essenciais é muito complexa e geralmente engloba vários tipos de substâncias. Sendo assim, a padronização das épocas de coleta, da parte da planta coletada e do cultivo sob as mesmas condições ambientais, auxilia na identificação de plantas que apresentam diferenças na sua composição química e concentração. Além disso, fatores como a temperatura, umidade e o solo conforme já discutidos também podem influenciar, principalmente em espécies que possuem estruturas histológicas de estocagem de óleo essencial na superfície das folhas (SALGADO et al., 2003).

Tabela 13 – Comparação dos compostos majoritários da composição química do óleo essencial das folhas de *P. guajava in natura* na época das chuvas e da seca, com os compostos majoritários encontrados na literatura (CRAVEIRO et al., 1981; PINO et al., 2001; LIMA, 2006).

Compostos majoritários <i>P. guajava</i>		
Literatura in natura	Chuva in natura	Seca in natura
Limoneno	Limoneno	trans-cariofileno
1,8-cineol	trans-cariofileno	α -humuleno
β -cariofileno	α -humuleno	β -selineno
α -humuleno	aromadendreno	α -selineno
α -terpineol	α -selineno	trans-nerolidol
β -guaiano	óxido de cariofileno	epóxido de aromadendreno
trans-nerolidol	selin-11-em-4 α -ol	selin-11-em-4 α -ol
óxido de cariofileno	-	-
selin-11-em-4 α -ol	-	-

Estudos realizados de caracterização, tanto como o realizado neste trabalho quanto os relatos da literatura, demonstram que o óleo essencial das folhas de goiabeira apresenta, na sua constituição, importantes compostos com potencial fungicida. Dentre eles o 1,8- cineol, limoneno, trans-cariofileno, óxido de cariofileno, entre outros (CRAVEIRO et al., 1981; CUELLAR et al., 1984; PINO et al., 2001).

5.4 Atividade do óleo essencial de folhas de *P. guajava* sobre o fungo *S. sclerotiorum*

Os resultados obtidos da atividade do óleo essencial de folhas de goiabeira sobre o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* podem ser observados nas figuras 36 e 37. Os óleos essenciais das folhas *in natura* de *P. guajava* apresentaram porcentagem de inibição micelial superior a 90% para ambas as épocas avaliadas.

No teste de porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), ao se comparar as concentrações previamente testadas a partir da utilizada por SILVA et al., (2009) de 100 μ l, 200 μ l e 300 μ l do óleo essencial extraídos das folhas *in natura* na época das chuvas (Figura 36), verifica-se que as concentrações diferiram estatisticamente entre si e os resultados indicaram efeito mais pronunciado da maior dosagem 300 μ l com 94,9% de inibição em relação a menor dosagem de 100 μ l com apenas 77,5% de inibição. A dose de 200 μ l o óleo essencial da goiabeira apresenta 90,8% de inibição do fungo *S. sclerotiorum* e a dose de 300 μ l apresenta inibição de 94,9%, assim se mostrando mais eficaz dentre as concentrações utilizadas. Esses resultados confirmam o potencial fungicida dos metabólitos especiais presentes no óleo

essencial. Nesta avaliação todos os resultados de PIC foram comparados com o controle positivo o fungicida Frowside com concentração de 10 μ l que apresentou inibição micelial de 100%.

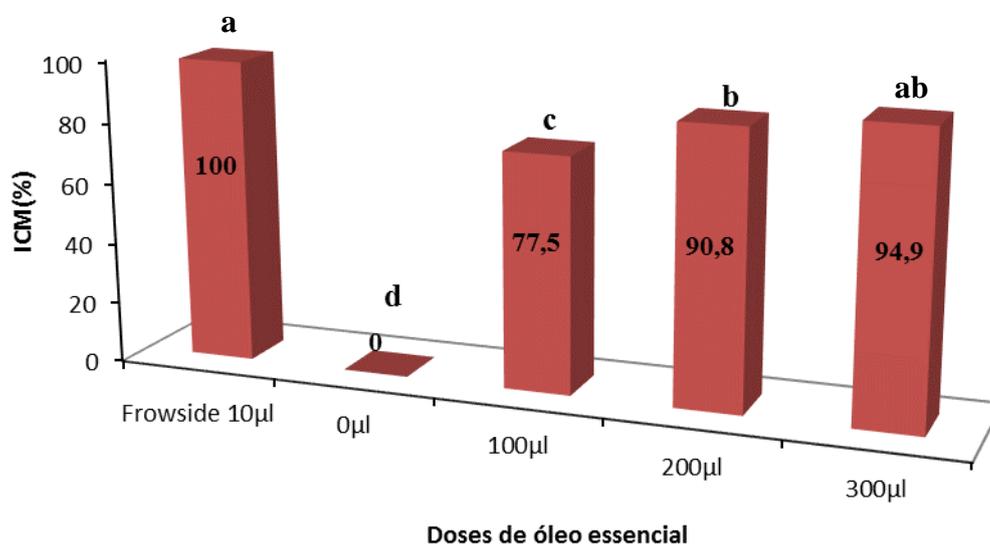


Figura 37 – Percentual de inibição micelial do óleo essencial de folhas *in natura* de goiabeira extraídos na época das chuvas sobre o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com o percentual de inibição de crescimento micelial obtido do óleo essencial extraído das folhas *in natura* da goiabeira coletadas na época da seca (Figura 37), foi possível observar que os resultados para a concentração de 100 μ l e 200 μ l não diferiram estatisticamente entre si, assim como a concentração de 200 μ l não diferiu estatisticamente da de 300 μ l. Mas as concentrações de 100 μ l e 300 μ l diferiram estatisticamente entre si, sendo que as concentrações de 100 μ l, 200 μ l e 300 μ l apresentaram inibição micelial de 80%, 90% e 93,4% respectivamente, demonstrando que a partir da dose de 100 μ l o óleo essencial em estudo demonstra um possível potencial fungicida.

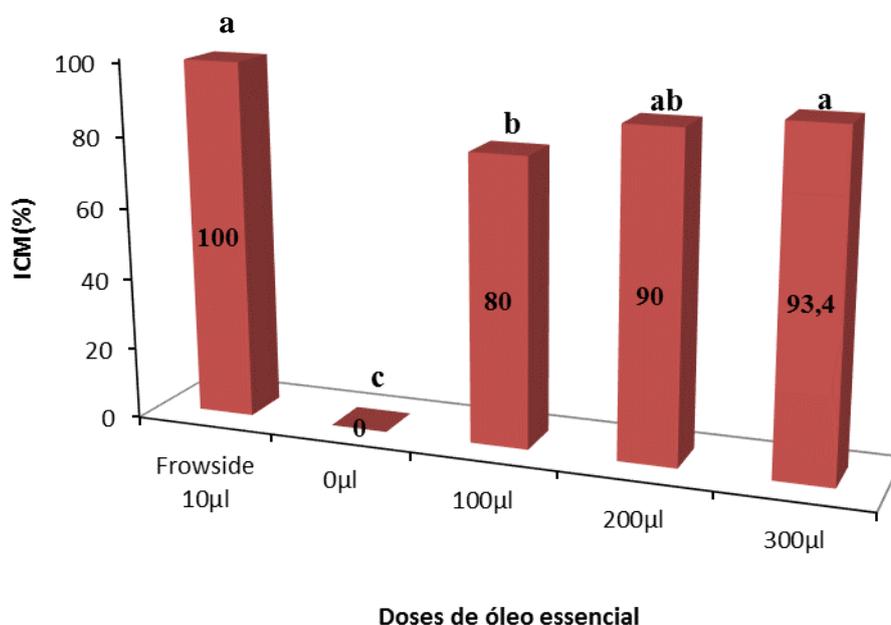


Figura 38 – Percentual de inibição micelial do óleo essencial das folhas *in natura* de goiabeira extraído na época da seca sobre o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ao se comparar a eficiência do óleo essencial *in natura* extraídos tanto na época das chuvas como da seca, pode-se observar que ambos apresentaram boa eficiência contra o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum*. A inibição na época das chuvas chegou a 94,9% e na época da seca a 93,4% com a dose de 300µl, apesar do óleo essencial ter apresentado composição química diferente entre as épocas, e na composição química do óleo essencial extraído na época das chuvas se obteve o limoneno, aromadendreno e o óxido de cariofileno enquanto na época da seca se obteve o β -selineno, trans-nerolidol e o epóxido de isoaromadendreno, este fato não interferiu significativamente em seu potencial fungicida contra o fungo em estudo, assim como o fato da variação na concentração dos demais compostos majoritários (trans-cariofileno, α -humuleno, α -selineno, e o selin-11en-4 α -ol) encontrados na composição do óleo essencial em estudo em ambas as épocas também não influenciou. Com a caracterização do óleo essencial das folhas da goiabeira foi possível identificar importantes compostos com potencial fungicida na sua composição, como também observar que estes compostos não mudaram em função do tipo de secagem e nem da época avaliada. Dentre eles o 1,8- cineol, limoneno, trans-cariofileno, óxido de cariofileno, entre outros (CRAVEIRO et al., 1981; CUELLAR et al., 1984; PINO et al., 2001; LIMA, 2006; KHADHRI et al., 2014).

SANTOS et al. (2010) referenciam que a maior ou menor atividade biológica dos óleos essenciais depende de alguns constituintes químicos em especial (citrал, α -pineno, 1,8-cineol, *trans*-cariofileno, furanodieno, limoneno, eugenol e carvacrol). Salienta-se, portanto, que pela complexidade da composição química de um óleo essencial, torna-se difícil relacionar a atividade biológica com as substâncias presentes.

Os resultados encontrados neste estudo são semelhantes aos obtidos por PEREIRA et al., (2006) ao estudar o potencial fungicida do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) observaram a tendência de aumento nos índices de inibição proporcional ao aumento da concentração testada. SILVA et al., (2009) ao observarem o efeito de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., observou que dentre os óleos e extratos avaliados o óleo essencial das folhas de goiabeira com dose de 100 μ l inibiu 100% da germinação deste fungo.

Na literatura há escassez de relatos sobre a ação fungicida do óleo essencial das folhas de goiabeira, há relatos apenas para a ação fungicida de extratos de suas folhas. PESSINI et al. (2003) avaliaram a atividade antimicrobiana e antifúngica de extratos de plantas utilizadas na medicina popular brasileira contra cepas de *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, e verificaram que o extrato das folhas da espécie *Psidium guajava* foi que apresentou melhor atividade antifúngica e atividade moderada em bactérias Gram-positivas. ALVES et al. (2006), ao estudarem a atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn sobre leveduras do gênero *Candida* concluíram que o extrato da folha da *Psidium guajava* apresentou atividade antifúngica bastante satisfatória sobre as leveduras de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. stelatoidea* e *C. krusei*. Em 2007, NAIR & CHANDA avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* de três extratos de *Psidium guajava* (metanol, acetona e dimetilformaldeído) contra 91 cepas patogênicas de importância clínica. Os três extratos foram igualmente ativos contra bactérias Gram-negativas, porém o extrato preparado com acetona foi altamente eficaz contra bactérias Gram-positivas e cepas de fungos, sendo ativos 74,72% do total das cepas estudadas. MENEZES et al., (2009) constatou o potencial fungicida do extrato das folhas de goiabeira contra *C. albicans*.

De acordo com SOUZA et al. (2005), o modo de ação que provoca a inibição de micro-organismos por óleos essenciais envolve inúmeros mecanismos, dependendo dos componentes majoritários do óleo essencial. Frente à complexa constituição química dos óleos essenciais, a sua atividade antimicrobiana não pode ser explicada por

somente um único mecanismo de ação, pois todos os componentes da célula do micro-organismo se tornam possíveis objetos de atuação desses óleos. Vale destacar que a lipofilicidade é uma importante característica dos óleos essenciais, permitindo que esses passem através da parede celular e da membrana citoplasmática, rompendo a estrutura de diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolípidios, e assim, alterando a permeabilidade dessas organelas (BAKKALI et al., 2008).

Esses estudos provavelmente corroboram com os resultados encontrados neste trabalho, pois como o óleo essencial analisado proporciona atividade antifúngica frente ao fitopatógeno, esta atividade pode ser inferida pela capacidade dos constituintes dos óleos atuarem individualmente ou em sinergismo, o que pode ter acarretado a morte dos micro-organismos.

Os resultados obtidos indicam o possível efeito fungicida do óleo essencial de folhas de goiabeira sobre o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, dessa forma a utilização de óleos essenciais pode se tornar uma ferramenta para o controle de pragas agrícolas.

6 CONCLUSÃO

O teor de óleo essencial extraído de folhas de goiabeira na época das chuvas diferiu estatisticamente de forma significativa entre os tempos de secagem, sendo que a secagem em estufa aumentou em 71% o teor de óleo essencial, enquanto a secagem à sombra apresentou 50% de aumento no teor de óleo essencial, ambos em relação ao teor de óleo essencial das folhas *in natura*, sendo que a secagem artificial em estufa a 40°C é o método de secagem sugerido para esta época.

O teor de óleo essencial de folhas de goiabeira submetidas aos métodos de secagem na época da seca não apresentou influência da secagem de forma significativa, pois houve aumento de 60% no teor de óleo essencial para ambos os métodos avaliados em relação ao teor de óleo essencial obtido com as folhas *in natura*, sendo que a escolha do método de secagem pode depender da finalidade para que o óleo essencial será utilizado.

Os óleos essenciais extraídos das folhas *in natura* de goiabeira na época das chuvas e da seca apresentaram em sua composição química 7 compostos majoritários, sendo em comum: o trans-cariofileno, α -humuleno, α -selineno e selin-11-en-4 α -ol que diferiram em sua concentração em ambas as épocas. O óleo essencial diferenciou em sua composição química, sendo identificados somente na época das chuvas o limoneno, aromadendreno e óxido de cariofileno enquanto na época da seca foram identificados o β -selineno, trans-nerolidol e o epóxido de isoaromadendreno.

O óleo essencial extraído das folhas de goiabeira *in natura* tanto na época das chuvas como na época da seca apresentou PIC de 94,9% e de 93,4% respectivamente, ambos com a dose de 300 μ l, demonstrando assim possível potencial fungicida contra o fungo *S. clerotiorum*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation: Illinois USA, p. 456, 1995.

AHMAD J.S., BAKER R. Competitive saprophytic ability and cellulolytic activity of rhizosphere-competent mutants of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathol* v.77, p.358-362, 1987.

AKROUT, A.; CHEMLI, R.; SIMMONDS, M.; KITE, G.; HAMMAMI, M.; CHREIF, I. Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Journal of Essential Oil Research*, v. 15, n. 5, p. 333-336, 2003.

ALMEIDA, A.M.R. et al. Doenças da soja. In: KIMATI, H. et al. (Eds.). *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 4 ed. São Paulo: Ceres, v. 2. p.569-588, 2005.

ALONSO T 1998. *Tratado de Fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas*. Buenos Aires: ISIS Ediciones SRL, 1998.

ALVES, E.S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E.L. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. *Acta bot. bras.*, v.22, n.1, p.241-248, 2008.

ALVES, P.M.; LEITE, P.H.A.S.; PEREIRA, J.V.; PEREIRA, L.F.; PEREIRA, M.S.V.; HIGINO, J.S.; LIMA, E.O. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*, *Brazilian Journal of Pharmacognosy* v.16, n.2, p.192-196, Abr./Jun. 2006.

AMORIN, L. Sobrevivência do inóculo. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorin, L. Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. São Paulo: Ed Agronômica Ceres, v.1, cap.13, p.246-267, 1995.

ARRUDA, V.M., CASALI, V.W.D., COSTA, C.C. et al. Qualidade da matéria-prima de *Melissa officinalis* L.) após manejo pós-colheita e secagem. Horticultura Brasileira, v. 20, n.2, supl. 2. CD ROM, 2002.

ARRUDA V.M. Colheita, pós-colheita e comercialização de plantas medicinais. Ação Ambiental, p.21-23, maio/jun., 2004.

ATTI SL, PANSERA MR, ATTI SAC, ROSSATO M, PAULETTI GF, ROTAL D, PAROUL N, MOYNA P. Variation in essential oil yield and composition of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. grown in southern Brazil. Rev Bras Pl Med., v.4, p. 72-74, 2002.

ATTI-SANTOS, A.C.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L.A.; BUENO, M.; CRIPPA, L.B.; SARTORI, V.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. Brazilian Journal of Pharmacognosy. v. 20, p.154-159, 2010.

ASEKUN, O. T.; GRIERSON, D. S.; AFOLAYAN, A. J. Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia* L. subsp. Capensis. Food Chemistry, v.101, p.995–998, 2007.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology, Oxford, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BEATRIZ, P.M.; EZEQUIEL, V.V.; AZUCENA, O.C.; PILAR, C.R. Antifungal activity of *Psidium guajava* organic extracts against dermatophytic fungi., Journal of Medicinal Plants Research Vol. 6(41), pp. 5435-5438, 25 October, 2012.

BETTIOL W., GHINI R. Controle Biológico. In BERGAMIN FILHO A., KIMATI H., AMORIM L. (Ed.) Manual de Fitopatologia. 3º ed. Agronomica Ceres. P. 919, 1995.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; RESENDE C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Química Nova, São Paulo, v. 32, n. 3, 588-594, 2009.

BLANCO. Influência da temperatura de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de menta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, São Pedro. Anais... São Pedro: [s.n.], v. 18, p. 901-903, 2000.

BLANK, A.F.; FONTES, S.M.; CARVALHO-FILHO, J.L.S.; ALVES, P.B.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M.C.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; RODRIGUES,

M.O. Influencia do horário de colheita e secagem de folhas no óleo essencial de melissa (*Melissa officinalis* L.) cultivada em dois ambientes. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.8, n.1, p. 73-78, 2005.

BLANK, A. F.; COSTA, A. G.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; CAVALCANTI, S. C. H.; ALVES, P. B.; INNECCO, R.; EHLERT, P. A. D.; SOUSA, I. F. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, n. 4, p. 557-564, 2007.

BOLAND, G.J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. Canadian Journal Plant Pathology, Guelph, v.16, n. 2, p. 93–108, 1994.

BOLTON, M.D., THOMMA, B.P., NELSON, B.D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. Mol. Plant Pathol. v.7, n.1, p.1–16, 2006.

BORSATO, A. V. Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila submetida à secagem em camada fixa. 2006. 165f. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2006.

BOTREL, P.P; PINTO, J.E.B.P; FERRAZ, V.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FIGUEIREDO, F.C. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl., Lamiaceae em função da sazonalidade, Maringá, v. 32, n. 3, p. 533-538, 2010.

BRANT, R.S. et al. Teor do óleo essencial de cidrão [*Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton] em função da variação sazonal. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.10, n.2, p.83-88, 2008.

BRITO JP, BAPTISTUSSI RC, FUNICHELO M, OLIVEIRA JEM, BORTOLI SA. Effect of essential oils of *Eucalyptus spp.* under *Zabrotes subfasciatus* (Both., 1833) (Coleoptera: Bruchidae) and *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) in two beans species. Bol Sanidad Veg Plagas. v.32, n.4, p.573–80, 2006.

BRUSTOLIN, R. Produção de inóculo e sobrevivência de *Sclerotinia sclerotiorum*. Passo Fundo: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, 2012, 119f. Monografia, 2012.

BUGGLE, V.; MING, L.C.; FURTADO, E.L.; ROCHA, S.F.R.; MARQUES, M.O.M. Influence of different drying temperatures on the amount of essential oils and

citral content in *Cymbopogon citrates* (DC) Stapf. Poaceae. *Acta Horticulturae*, n.500, p.71-74, 1999.

BUVANESWARI, S, RAADHA, CK, KRISHNAVENI, N, JAYASHREE, S, *In-vitro* Antimicrobial activity of *Psidium guajava* against clinically important strains, *EJLS*, v.1, n.1, p. 14-22, 2011.

BUNGER, M.O.; SACALON, V.R.; SOBRAL, M.; STEHMANN, R. Myrtaceae no Parque Estadual do Itacolomi, Minas Gerais, Brasil, *Rodriguésia* v.63, n.4, p. 857-881. 2012.

CAMPANHOLA, C. Métodos alternativos de controle fitossanitário. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, p.279, 2003.

CAMPBELL, L.; R. Biological control of microbial plant pathogens. Sidney: C.U.P, 218p, 1989.

CARDOSO, J. E. Doenças do feijoeiro causadas por patógenos de solo. *Embrapa Arroz e Feijão*, 30, 1990.

CARVALHO FILHO JLS; ALVES PB; EHLERT PAD; MELO AS; CAVALCANTI SCH; ARRIGONIBLANK MF; SILVA-MANN R; BLANK AF. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* v.16 p.24-30, 2006.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R., *Contribuição ao estudo das plantas medicinais metabólitos secundários*. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, p.99, 2004.

CELESTINO, S.M.C. Princípios de Secagem de Alimentos. Documentos 276. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Cerrados. Ministério de Agricultura, Pesca e Abastecimento. ISSN - on line – 2176 5081. Planaltina-DF. 36 p, 2010.

CHALANNVAR, R.K; NARAYANASWAMY, V.K.; BAIJNATH, H.; ODHAV, B. Chemical constituents of the essential oil from leaves of *Psidium cattleianum* var. *cattleianum*. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 7(13), pp. 783-789, 3 April, 2013.

CHEN, KC, PENG CC, CHIU WT, CHENG YT, HUANG GT, Hsieh CL, Action mechanism and signal pathways of *Psidium guajava* L. aqueous extract in killing prostate cancer LNCaP cells, *Nutr Cancer*, v.62, n.2, p. 260- 270, 2010.

CHITARRA, M. I. F. Características das frutas de exportação. In: GONGATTI NETO, A. et al. *Goiaba para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita*.

Brasília, DF: EMBRAPA, 1996. cap. 1, p. 9-11. (Série publicações técnicas FRUPEX, 20), 1996.

COLE, R.A., SETZER, W.N., Chemical composition of the leaf essential oil of *Psidium guajava* from Monteverde, Costa Rica. *J. Essent. Oil-Bear Plants* 10, 365–373. *European Pharmacopoeia*, 1996. 3rd ed, Strasbourg, Council of Europe, pp. 121–122, 2007.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento; Séries Históricas. Disponível

em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=2&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos> Acesso em 10/01/2015.

CORRÊA Jr., C. et al. Cultivo agroecológico de plantas medicinais, aromáticas e condimentares. Brasília: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2006.

CORREA, J.C.R.; SALGADO, H.R.N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.13, p. 500-506, 2011.

CORRÊA JÚNIOR, C., MING, L.C., SCHEFFER, M.C. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. Jaboticabal: Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, 162p, 1994

CORRÊA, R.M.; BERTOLUCCI, S.K.V.; PINTO, J.E.B.P.; REIS, É.S.; ALVES, T.L. Rendimento de óleo essencial e caracterização organoléptica de folhas de *assa-peixe* submetidas a diferentes métodos de secagem. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.28, n.2, p.339-344, mar./abr. 2004.

COSTA, I. R. Estudos evolutivos em Myrtaceae: aspectos citotaxonômicos e filogenéticos em Myrteae, enfatizando *Psidium* e gêneros relacionados. Abril, 2009. 235 folhas, Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas Instituto de Biologia. Campinas – SP, Abril, 2009.

COSTA, L.C.B.; CORRÊA, R.M.; CARDOSO, J.C.W.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FERRI, P.H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de *capim-limão*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.23, n.4, p.956-959, out-dez 2005.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. Óleos essenciais de plantas do nordeste. [S. l.]: UFC, 1981. 210 p, 1981.

CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L. D. Aromas, insetos e plantas. *Ciência Hoje*, v.4 (23), p. 54-63, 1986.

CUELLAR, AC, LARA RA, ZAYAS JP 1984. *Psidium guajava* L. Tamizaje fitoquímico y estudio del aceite esencial. Rev Cubana Farm 18: 92-99, 1984.

DABAGUE, I.C.M.; DESCHAMPS, C.; MOGOR, A.F.; SCHEER, A.P.; CÔCCO, L. Teor e composição de óleo essencial de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) após diferentes períodos de secagem, Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.13, n.1, p.79-84, 2011.

DEANS, S.G; SVOBODA, K.P. Effects of drying regime on volatile oil and microflora of aromatic plants. Acta Horticulturae, n.306, p.450-452, 1992.

DE LIMA, R. K. et al. Composition of the essential oil from the leaves of tree domestic varieties and one wild variety of the guava plant (*Psidium guajava* L., Myrtaceae). *Rev. bras. farmacogn.* [online], vol.20, n.1, pp. 41-44, 2010.

DEUS, R. J. A.; ALVES, C. N.; ARRUDA, M. S. P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). *Rev. Bras. Plantas Med., Botucatu*, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2011.

DILDEY, O.D.F.; BARBIAN, J.M.; GONÇALVES, E.D.V.; BROETTO, L.; ETHUR, L.Z.; KUHN, O.J.; BONETT, L.P. Inibição do crescimento *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum*, causador de mofo branco, por isolados de *Trichoderma* spp., *R. bras. Bioci., Porto Alegre*, v. 12, n. 3, p. 132-136, jul./set. 2014.

DONATO, A.M; MORRETES, B.L. Morfo-anatomia foliar de *Myrcia multiflora* (Lam.) DC. - Myrtaceae. *Rev. bras. plantas med., Botucatu* , v. 13, n. 1, 2011.

DÔRES, R.G.R.das; CASALI, V.W.D; Plantas medicinais e aromáticas: controle de qualidade. Minas Gerais: UFV/DFT, p 29-43, 2007.

EBADOLLAHI, A. Essential Oils Isolated from Myrtaceae Family as Natural Insecticides. *Annual Review & Research in Biology* v.3, n.3, p.148-175, 2013.

EDGINTON, L.V. et al., Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, v.62, p.42, 1971.

EL FATTAH, M.A. et al. Effect of drying on the physicochemical properties and chemposition of lemongrass oil. *Menofiya Journal Agriculture Research*, v.17, n.3, p.1211-30, 1992.

ETHUR, L. Z.. *Dinâmica populacional e ação de Trichoderma no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro*. 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

FARIAS, M. R.; Em Avaliação da Qualidade de Matérias-Primas Vegetais; Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., eds.; Eds. da UFRGS e UFSC: Porto Alegre/Florianópolis, 2003.

FERNANDES, E.S., PASSOS, G.F., MEDEIROS, R., CUNHA, F.M., FERREIRA, J., CAMPOS, M.M., PIANOWSKI, L.F., CALIXTO, J.B. Os efeitos anti-inflamatórios dos compostos de alfa-humuleno e (-) – trans-cariofileno isolados a partir do óleo essencial de *Cordia verbenácea*. European Journal of Pharmacology Volume 569, Issue 3 , páginas 228-236, 2007.

FERRAZ, L.C.L., BERGAMIN, F. A., AMORIN, L.; NASSER, L.C.B. Viabilidade de *Sclerotinia sclerotiorum* após a solarização do solo na presença de cobertura morta. Fitopato log ia Brasileira, Brasília, DF, v. 28, n. 1, p. 17-26, 2003.

FERRONATTO R., MARCHESAN E. D., PEZENTI E., BEDNARSKI F. ONOFRE S. B.; Rev. Bras. Ffarmacogn. v.17, p.224, 2007.

FIGUEIRA, G.M., SARTORATTO, A., SILVA, C.A.L. Efeito da secagem em espécies do gênero *Cymbopogon* na composição do óleo essencial. Horticultura Brasileira, v.21, n.2, supl.2 – CD ROM, 2003.

FILHO, D.S.J. Globalizando o Problema, Fundamentando Soluções. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE MOFO BRANCO, 1., 2012, Ponta Grossa. Anais do 1º Encontro Internacional de Mofo Branco. Ponta Grossa: UEPG, 82 p., 2012.

FREIRE, M. F. I.; ABREU, H. S.; CRUZ, L. C. H.; FREIRE, R. B. Inhibition of fungal growth by extracts of *vernonia scorpioides* (Lam.) Pers. Microbiology v.27, p. 1-6, 1996.

FREITAS, M.R.V.; SILVA, J.M.; SILVA, D.G.R.; NASCIMENTO, K.T.O.; SIMOES, S.S.; COSTA, J.A.; SILVA, C.D.; SA, R.A.; NAPOLEÃO, T.H.; NAVARRO, D.M.A.F. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* frente a fungos fitopatogênicos do gênero *Fusarium*. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/7/1660-13827.html>>. Acessado 30/01/2015.

FURLAN, M.R. Cultivo de plantas medicinais. Cuiabá: SEBRAE-MT, 137p, 1998.

GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; BARBOSA, K.A.G.; CASSEMIRO, T.A. Antifungal activity of vegetable oils and extracts against *Sclerotinia sclerotiorum*. Biosci. J., Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 48-57, Jan./Feb. 2012.

GONCALVES, F.A.; ANDRADE NETO, M.; BEZERRA, J. N. S.; MACRAE, A.; SOUSA, O. V.; FONTELES-FILHO, A. A.; VIEIRA, R. H.S.F. Antibacterial

activity of guava, *Psidium guajava* Linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (HELLER). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, vol. 50, p.11-15, 2008.

GONG, H.Y.; LIUD, W.H.; GY, L.V.; ZOHOU, X. Analysis of essential oils of *Origanum vulgare* from six production areas of China and Pakistan., *Rev Bras Farmacogn* v.24, p.25-32, 2014.

GONZAGA NETO, L.; SOARES, J.M. Goiaba para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA-SPI, 49 p, 1994.

GORGEN, C. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V. A.; LOBO JUNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.44, n.12, p.1583-1590, dez. 2009.

GORGEN, C.A.; HIKISHIMA, M.; NETO, A.N.S.; CARNEIRO, L.C.; JUNIOR, M.L. Mofo Branco (*Sclerotinia sclerotiorum*). In: ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S. Soja: Doenças Radiculares e de Hastes e Inter-relações com o Manejo do Solo e da Cultura. 1 ed. Londrina: Embrapa Soja, p.73-104, 2010.

GRESSLER, E.; PIZO, M.A.; MORELLATO, P.C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. *Revista Brasil. Bot.*, V.29, n.4, p.509-530, out.-dez. 2006.

GUENTHER, E. 1972. The production of essential oils: methods of distillation, enfleurage, maceration, and extraction with volatile solvents. In: Guenther, E. (ed.). The essential oils. History-origin in plants. production analysis. Vol. 1:85-188. Krieger Publ. Co., Malabar, FL, 1972.

HARBONE, J. B. Introduction to Ecological biochemistry. 4.ed. London: Academic, 1993.

HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; FILHO, D. S. J.; PANOBIANCO, M. Incidência de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja e sensibilidade dos testes de detecção *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.47, n.6, p.763-768, 2012.

ISENBERG, C.; HOLANDA, M. *Influence of temperature and drying position of medicinal plants in a dryer based on solar energy*, *Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.*, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 57-64, jan./mar. 2011.

ISMAN MB. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protect.*, v.19, p.603-08, 2000.

ISMAN MB. Perspective botanical insecticides: For richer, for poorer. *Pest Manag Sci.*, v.64, p.8–11, 2008.

JAIARJ, P., KHOOHASWAN, P., WONGKRAJANG, Y., 1999. Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. *J. Ethnopharmacol.*, v.67, p.203–212, 1999.

JIANG, Z.; AKHTAR, Y.; BRADBURY, R.; ZHANG, X.; ISMAN, M.B., Comparative toxicity of essential oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and blends of their major constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.57, p. 4833-4837, 2009.

JIMENEZ-ESCRIG, M; RINCON, M; PULIDO R; SAURA-CALIXTO F; Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, n.11, p.5489–5493, 2001.

JOLY, A.B., *Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal*. 4 ed., São Paulo, Companhia Editora Nacional, 1977.

JOSEPH B, PRIYA RM, Phytochemical and biopharmaceutical aspects of *Psidium guajava* (L.) essential oil: A review, *Res J Med Plant*, v.5, p.432-442, 2011.

JULIATTI, F. C.; CRATO, F. F.; JULIATTI, F. C.; COUTO, K. R.; JULIATTI, B. C. M. ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DE MOFO BRANCO EM SOJA, *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 676-680, 2013.

KHADRIA, A.; MOKNIB, R.E.; ALMEIDAC, C.; NOGUEIRA, J.M.F.; ARAUJO, E.M. Chemical composition of essential oil of *Psidium guajava* L. growing in Tunisia. *Industrial Crops and Products* v.52, p.29– 31, 2014.

KHATER, H.F.; Hanafy, A.; Mageed, A.D. A.; Ramadan, M.; Madawy, H.F.E; Control of the myiasis-producing fly, *Lucilia sericata*, with Egyptian essential oils, *international Journal of Dermatology*, vol.50, issue 2, pg. 187-194, 2011.

KOLLER, O. C. *Cultura da goiabeira*. Porto Alegre: Agropecuária, 44p., 1979.

KUMARI, K.K; G. N.; MASILAMANI, S.; GANESH, M. R.; ARAVINDE, S.; SRIDHAR, S. R. A fungistatic sesquiterpene from *Vernonia arborea*. *Fitoterapia* v. 74, p. 479-482, 2003.

KUHN, O.J.; PORTZ, R.L.; STANGARLIN, J.R.; DEL ÁGUILA, R.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FRANZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. *Ciências Agrárias*. v. 27, p.13-20, 2006.

KUHN, C.N. Uso alimentar e medicinal de frutos de espécies nativas pela comunidade rural do município de São Paulo das Missões/RS: Uma abordagem etnobotânica, Canoas, Universidade Luterana do Brasil – ULBRA, 2010.

KUTCHAN, T.M., Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism, *Plant Physiol*, v.125, p.58, 2001.

LAMIRI, A, LHALOUI, S, BENJULALI, B, BERRADA M. Insecticidal effects of essential oils against hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *Field Crop Res.* v.71, p.9–15, 2001.

LANDRUM, L.R. & SHARP, W.P. Seed coat characters of some American Myrtinae (Myrtaceae): *Psidium* and Related Genera. *Systematic Botany*. V.14, p. 370-376, 1989.

LANDRUM, L.R. A revision of the *Psidium salutare* complex (Myrtaceae). *Sida*, v.20, p. 1149-1469, 2003.

LAPIK, O, KLEJDUS, B, KOKOSKA, L, Identification of isoflavones in *Acca sellowiana* and two *Psidium species*(Myrtaceae), *Biochem Syst Ecol*, v.33, p. 983-992, 2005.

LEE, W.C.; MAHMUDA, R.; PILLAI, S.; PERUMALA, S.; ISMAIL, S. Antioxidant Activities of Essential Oil of *Psidium guajava* L. Leaves. *APCBEE Procedia*, v.2, p.86 – 91, 2012.

LEITE, R. M. V. B. de C. Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e soja. *Embrapa Soja*, 76, 2005.

LEMOS, D.R.H. Influencia da temperatura do ar de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel, 2008. 58 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, MG, 2008.

LIMA, Rafaela Karin. Caracterização química e bioatividade do óleo essencial de goiabeira sobre a lagarta-do-cartucho do milho, 2006. 57 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agroquímica e Agrobioquímica) Universidade Federal de Lavras, MG, 2006.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G.; SANTOS, C.D.; MORAES, J.C.; NERI, D.K.P; NASCIMENTO, E.A. Caracterização química do óleo essencial das folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) e seus efeitos no comportamento da lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), *Ciênc.agrotec.*, Lavras, v.33, Edição especial, p.1777-1781, 2009.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G.; ANDRADE, M.A.; NASCIMENTO, E.A.; MORAIS, S.L.; NELSON, D.L. Composition of the essential oil from the leaves of tree domestic varieties and one wild variety of the guava plant (*Psidium guajava* L., Myrtaceae) Brazilian Journal of Pharmacognosy v.20, n.1, p. 41-44, Jan./Mar. 2010.

LOAYZA, I. *et al.* Essential oils of *Baccharis salicifolia*, *B. latifolia* and *B. dracunculifolia*. Phytochemistry, v. 38, n. 02, p. 381-389, 1995.

LOZOYA, X., MORALES, H., SOTO, M.A., GARCIA, M.C., GONZALES, Y., DOUBOVA, S.V., Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. J. Ethnopharmacol., v.83, p.19–24, 2002.

MANOSROI, J., DHUMTANOM, P., MANOSROI, A., Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. Cancer Lett. v.235, p.114–120, 2006.

MARCHESE, J.A.; FIGUEIRA, G.M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. REV.BRAS.PL.MED., Botucatu, v.7, n.3, p.86-96, 2005.

MARTINS, J. A. S.; SAGATA, E.; SANTOS, V. A.; JULIATTI, F. C. Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos. Bioscience Journal, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 49-51, jan./feb. 2010.

MARTINS, P. M. Influência da temperatura e da velocidade do ar de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF). 2000. 91 f. Tese (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

MATOS, Ângelo Paggi. Potential of *Chlorella vulgaris* cultivated in medium based on concentrated desalination. 2012. Dissertation (Master in Food Science). Federal University of Santa Catarina. Florianópolis – SC, 2012.

MELLO, A. F. S.; LOURENÇO, S. A. de; AMORIM, L. Alternative products in the *in vitro* inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. Scientia Agricola, Piracicaba, v. 62, n. 2, p. 179-183, 2005.

MENEZES, J. S. Ação Antimicrobiana *In Vitro* de *Psidium guajava* L. Contra *Staphylococcus aureus* isolados de leite materno. 2013. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade José Do Rosário Vellano, Alfenas- MG. 2013.

MENEZES, T.O.A.; ALVES, A.C.B.A.; VIEIRA, J.M.S.; MENEZES, S.A.F.; ALVES, B.P.; MENDONÇA, L.C.V. 2009. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. *Revista de Odontologia da UNESP*, 38(3): 184-191, 2009.

MEVY, J.P.; BESSIERE, J.M.; DHERBOMEZ, M.; MILLOGO, J. VIANO, J. Chemical composition and some biological activities of the volatile oils of a chemotype of *Lippia chevalieri* Moldenke. *Food Chemistry*, v. 101 p. 682–685, 2007.

MORAIS LAS. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira* 27: S4050-S4063, 2009.

MULLER, J.; MUHLBAUER, W. Effects of drying on the essential oil of Chamomile recutita. In: International Joint Symposium of Biology and Chemistry of Active Natural Substances, Bonn, Anais... Bonn, p.155, 1990.

NAGAO, E. O. et al. Efeito do horário de colheita sobre o teor e constituintes majoritários de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br., quimiotipo citral-limoneno. *Revista Ciência Agronômica*, vol. 35, n.2, p.335-360, 2004.

NAIR, Rathish; CHANDA, Sumitra. In-vitro antimicrobial activity of *Psidium guajava* l. leaf extracts against clinically important pathogenic microbial strains. *Braz. J. Microbiol.*, São Paulo, v. 38, n. 3, Sept. 2007.

NASCIMENTO PFC, NASCIMENTO AC, RODRIGUES CS, ANTONIOLLI AA, SANTOS PO, BARBOSA JUNIOR AM, TRINDADE R.C 2007. Antimicrobial activity of the essential oils: a multifactor approach of the methods. *Rev Bras Farmacogn* 17: 108-113, 2007.

NAVARRETE, A.; WALLRAF, S.; MATO, R. B.; COCERO, M. J. Improvement of Essential Oil Steam Distillation by Microwave Pretreatment. *I&EC Research*, v. 50, p. 4667-4671, 2011.

NÉRIO, L.S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENCO, E. Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresource and Technology*, v. 101, p. 372-378, 2010.

NETO, L.G.; LOPES, N.P., Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 2, 374-381, 2007.

NETO, A. C. A.; ARAUJO, P.C.; SOUZA, W. C. O.; MEDEIROS, J. G. F.; AGUIAR, A. V. M., Óleo essencial de anis na incidência e controle de patógenos em sementes de erva-doce (*Foeniculum vulgare* mill.), *Revista verde*, v.7, n.1, p. 170-176, 2012

NOGUEIRA, M. A.; DIAZ, G.; SAKUMO, L. Caracterização química e atividade biológica do óleo essencial de *Lippia alba* cultivada no Paraná. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 28, n.3, p.273 – 278, 2007.

OKUNROBO, L. O.; KATE EI, ADEYME AA, Phytochemical, Proximate and Metal Content Analysis of the Leaves of *Psidium guajava* Linn (Myrtaceae), International Journal of Health Research, 2010, 3(4), 217-221.

OLIVEIRA, M.T.R.; BERBERT, P.A.; MATOS, C.R.R.; MATHIAS, L.; MOREIRA, R.O. Efeito da temperatura do art de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*, *Quim. Nova*, Vol. 34, No. 7, 1200-1204, 2011.

OLIVEIRA RAG, LIMA EO, VIEIRA WL, FREIRE KRL, TRAJANO VN, LIMA IO, SOUZA EL, TOLETO MS, SILVA-FILHO RN 2006. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. Rev Bras Farmacogn 16: 77-82, 2006.

OH, W.K., LEE, C.H., LEE, M.S., BAE, E.Y., SOHN, C.B., OH, H., Antidiabetic effects of extracts from *Psidium guajava*. J. Ethnopharmacol., v.96, p.411–415, 2005.

OMIDBAIGI, R.; SEFIDKON, F.; KAZEMI, F. Influência do método de secagem sobre o teor de óleo essencial e composição da camomila romana, *Flavour Fragr.* v.19, p.196-198, 2004.

PADUCH, R.; SZERSZEŃ, M. K.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, v. 55, n. 5, Oct. 2007.

PAN, Y., WANG, Z., WU, H. Resistance to carbendazim in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Chin. J. Oil Crop Sci.* v.19, n.3, p.67–68, 1997.

PANSERA, M.R.; VIVENÇO, C.B.; PRANCUTTI, A.; SARTORI, V.C.; RIBEIRO, R.T.S. Controle alternativo do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) De Bary causador da podridão de sclerotinia, com óleos essenciais e extratos vegetais. *Rev. Bras. de Agroecologia.* v.7,n.3, p. 126-133, 2012.

PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; POSER, G. L. Terpenoides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 19, n. 1A, p. 140-149, 2009.

PAVAN, M.A.; KUROZAWA, C. Doenças da alface (*Lactuca sativa*). KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN, F.A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. Manual

de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Ed Agronômica Ceres, 1997. v.2, cap. 4, p.18-25, 1997.

PELLISSARI, G. P.; PIETRO, R. C. L. R.; MOREIRA, R. R. D., Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC., Asteraceae, *Brazilian J. of Pharmacognosy* v.20,n.1,p.70-74,2010.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S.; SILVA, R. G.; FERNANDES, A. F.; FONSECA, E. W. N.; PICOLLI, R. H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. *Ciênc. agrotec., Lavras*, v. 30, n. 4, p. 731-738, jul./ago., 2006.

PESSINI GL, HOLETEZ FB, SANCHES NR, CORTEZ DAG, DIAS-FILHO BP, NAKAMURA, CV 2003. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. *Rev Bras Farmacogn* v.13(Supl. 1) p.21-24, 2003.

PIGNATI, W., OLEIVEIRA, N.P., SILVA, M.C., Vigilância aos agrotóxicos: quantificação do uso e previsão de impactos na saúde-trabalho-ambiente para os municípios brasileiros. *Ciência & Saúde Coletiva*, n.º19, vol. 12, p. 4669-4678, 2014.

PIMENTEL, F.A., CARDOSO, M.G.C., ANDRADE, M.A., ZACARONI, L.M., GUIMARAES, L.G.L. Influencia da secagem sobre o rendimento e composição química dos compostos voláteis das raízes de *Piper piscatorum* Trel. & Yunck. (PIPERACEAE). *Quim. Nova*, Vol. 35, No. 4, 715-718, 2012.

PINO, J. A.; AGUERO, J.; MARBOT, R.; FUENTES, V. Leaf oil of *Psidium guajava* L. from Cuba. *Journal Essential Oil Research*, Carlo Stream, v. 31, n. 1, p. 61-62, Jan./Feb. 2001.

PINO, JA, BELLO, A, URQUIOLA, A, MARBOT, R, MARTI, MP. Leaf oils of *Psidium parvifolium* Griseb and *Psidium cattleianum* Sabine from Cuba. *J. Essent. Oil Res.* 16:370-371, 2004.

PRIMEL, E.G. et al. Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande Do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. *Química Nova*, v.28, n.4, p.605-609, 2005.

QUEIROZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S.R.R., ed. Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro. (on line). Versão 1.0. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido/ Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, nov. 1999.

RADUNZ, L.L.; MELO, E.C.; BERBERT, P.A.; BARBOSA, L.C.A.; ROCHA, R.P.; DE GRANDI, A.M. Efeitos da temperatura do ar de secagem sobre a qualidade do óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham) Revidta Brasileira de Armazenamento, v.27, n.2, p.09-13, 2002.

RADUNZ, L. L.; MELO, E. C.; ROCHA, P. P.; BERBERT, P. A.; GRACIA, L. M. N. Study of essential oil from guaco leaves submitted to different drying air temperature. Engenharia na Agricultura, v.18, n.3, p.241-247, 2010.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Repellent activity of selected plant essential oils against the malarial fever mosquito *Anopheles stephensi*. Tropical Biomedicine, vol. 24, n. 2, p. 71–75, 2007.

RATTANACHAIKUNSOPON, P.; PHUMKHACHORN, P. Bacteriostatic effect of flavonoids isolated from leaves of *Psidium guajava* on fish pathogens. Fitoterapia, vol. 78, p. 434–436, 2007.

REIS, E. S.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CORRÊA, R. M.; PAULA, J. R.; ANDRADE, S. T.; FERRI, P. H. Seasonal variation in essential oils of *Lychnophora pinaster* Mart. Journal of Essential Oil Research, v. 22, n. 2, p. 147-149, 2010.

REISCHE, D.W., LILLARD, D.A., EITENMILLER, R.R. (1998): Antioxidants in food lipids. In Ahoh C.C. and Min D.B. eds., Chemistry, nutrition and biotechnology. New York:Marcel Dekker, pp. 423-448, 1998.

RODRIGUES, E.A., FREITAS, K.R., STANGARLIN, J.R., SCAPIM, C.A., GRADE, A.C. Potencial da planta medicinal Potencial da planta medicinal otencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. Acta Sci. Agron. Maringá, v. 28, n. 2, p. 213-220, April/June, 2006 .

RODRIGUES, T.B.; SANTOS, J.B. Effect of nature selection on common bean (*Phaseolusvulgares*) microsatellite alleles. Genetics and Molecular Biology, Ribeirão Preto, v. 29, n. 2, p.345-352, 2007.

ROSADO, L.D.S.; PINTO, J.E.B.P.; BOTREL, P.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; NICULAU, E.S.; ALVES, P.B. Influence of leaf processing and type of drying on the content and chemical composition of the essential oil of basil cv. Maria Bonita Ciênc. agrotec., Lavras, v. 35, n. 2, p. 291-296, mar./abr., 2011.

ROSAS, J.F.; SILVA A.C.M.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A. Comparação dos voláteis das folhas de *Ocimum micranthum* Willd obtidos por

hidrodestilação e destilação-extração simultânea. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 7:26-29, 2004.

SACCHETTI, G., MAIETTI, S., MUZZOLI, M.V., SCAGLIANTI, M., MANFREDINI, S., RADICE, M., BRUNI, R., Comparative evaluation of 11 essential oils of different origins functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.*91, 621–632, 2005.

SALGADO, A. P. S. P. et al. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254, 2003.

SANTOS, A. C. A. et al. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 154-159, 2010.

SANTOS, F.A.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Investigations on the Antinociceptive Effect of *Psidium guajava* Leaf Essential Oil and its Major Constituents. *PHYTOTHERAPY RESEARCH*, VOL. 12, p.24–27, 1998.

SANTOS, I.T.B.F.; SANTOS, T.S.; SILVA, F.L.S.; GAGLIARDI, P.R.; JÚNIOR, L.F.G.O.; BLANK, A.F. Óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi como controle alternativo de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*, fungos fitopatogênicos de pós-colheita. *Revista GEINTEC*. São Cristovão/SE, v. 4/n. 4/ p.1409-1417, 2014.

SATO J, GOTO K, NANJO F, KAWAI S, MURATA K., Antifungal activity of plant extracts against *Arthrrium sacchari* and *Chaetomium funicola*. *J Biosci Bioeng*, v.90, p.442- 446, 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. *Fitopatologia Brasileira*. v. 28, p. 554-556, 2003.

SCHUCK, V. J. A.; FRATINI, M.; RAUBER, C. S.; SCHAPOVAL, A. H., E. E. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 37, n. 1, p. 45-49, 2001.

SHARMA K, MESHRAM, NM. Bioactive of essential oils from *Acorus calamus* Linnaeus and *Syzygium aromaticum* Linnaeus against *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) in stored wheat. *Biopest Intern*. v.2, n.2, p.144–52, 2006.

SHARMA, N.; TRIPATHI, A. Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. World Journal of Microbiology and Biotechnology, Oxford, v. 22, n. 6, p. 587-593, 2006.

SHEN, S.C., CHEN, F.C., WU, N.J., Effect of guava (*Psidium guajava* Linn.) leafsoluble solids on glucose methabolism in type 2 diabetic rats. Phytother. Res.22, p.1458–1464, 2008.

SHURUTHI, S. D.; ROSHAN,A.; TIMILSINA, S. S.; SUNITA, S. A Review on the medicinal plant *Psidium Guajava* Linn. (Myrtaceae). Journal of Drug Delivery & Therapeutics, vol.3, n. 2, p. 162-168, 2013.

SELLAMI, I. H.; WANNES, W. A.; BETTAIEB, I.; BERRIMA, S.; CHAHED, T.; MARZOUK, B.; LIMAM, F. Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. Food Chemistry, v.126, n.2, p.691-697, 2011.

SILVA, A.C., SALES, N.L.P., ARAÚJO, A.V., JUNIOR, C.F.C. EFEITO IN VITRO DE COMPOSTOS DE PLANTAS SOBRE O FUNGO *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. ISOLADO DO MARACUJAZEIRO. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, 2009.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. Plantas medicinais e aromáticas: Pós-colheita e óleos essenciais. Viçosa: Arte e Livros, 135p, 2005

SILVA F; SANTOS RHS; DINIZ ER; BARBOSA LCA; CASALI VWD; LIMA RR. Teor e composição do óleo essencial de manjeriçao (*Ocimum basilicum* L.) em dois horários e duas épocas de colheita. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais v.6 p.33-38, 2003.

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

SIMOES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L.A.; PETROCICK, P. R.; *Farmacognosia da planta ao medicamento*, 5a ed., UFRGS/UFSC: Porto Alegre/Florianópolis, 2003.

SIMOES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre; Florianópolis: Ed. da UFRGS; Ed. Da UFSC, p. 467-495, 2004.

SIMOES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6 ed. Porto Alegre: Universidade/UFRGS. p. 404 - 492, 2007.

SOARES-SILVA, L.H.; & PROENÇA, C.E.B. A new species of *Psidium* L. (Myrtaceae) from southern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*. V.158, p. 51-54, 2008.

SOARES, R.D.; CHAVES, M.A.; SILVA, A.A.L.; SILVA, M.V.; SOUZA, B.S. Influência da temperatura e velocidade do ar na secagem de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) com relação aos teores de óleos essenciais e de linalol. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras-MG, v.31, n.4, p. 1108-1113, 2007.

SOBRAL, M.; Proença, C.; Souza, M.; Mazine, F. & Lucas, E., Myrtaceae. *In: Forzza, R.C. et al. (eds.). Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB010262>>. Acesso em 20 Janeiro 2015.

SOUZA, E. L. et al. Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 48, n. 4, p. 549-558, 2005.

SOUZA, S.A.M; MEIRA, M.R; FIGUEIREDO, L.S; MARTINS, E.R. Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. *Enciclopédia Biosfera*. Centro científico conhecer. Goiânia. v. 6. n. 10, p.1 - 2, 2010.

STANGARLIN, J.R., et al. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. *Biotechnology, Ciência & Desenvolvimento*, v. 11, p. 16-21, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAPONDJOU, AL, ADLER, C, FOTEM, DA, BOUDA, H, REICHMUTH, C. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *J Stored Prod Res*. v.41, p.91–102, 2005.

TAVARES, A. A.; SAMPAIO, M.C.C.; SAMPAIO, F.C.; MELO, A.F.M.; SENA, K.X.F.R.; CHIAPPETA, A.A; HIGINO, J.S. Atividade Antimicrobiana in vitro de Extratos Hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre Bactérias Gram-Negativas, *Acta Farm. Bonaerense* vol. 21 (4): p. 255, 2002

TEIXEIRA, J.S.C. Qualidade de molhos agrídoces de goiaba (*Psidium guajava* L.) e tomate (*Lycopersicon Esculentum*). 2007. 92 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2007.

TEIXEIRA, M.L.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; MACHADO, S.M.F.; ANDRADE, M.A.; GOMES, M.S.; ANDRADE, J. Citrumelo Swingle: Caracterização

química, atividade antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais das cascas frescas e secas. *Magistra*, Cruz das Almas-BA, v. 24, n. 3, p. 194-203, jul./set. 2012.

THAVARA, U.; TAWATSIN, A.; BHAKDEENUAN, P.; WONGSINKONGMAN, P.; BOONRUAD, T.; BANSIDDHI, J.; CHAVALITTUMRONG, P.; KOMALAMISRA, N.; SIRIYASATIEN, P.; MULLA, M.S. Repellent activity of essential oils against cockroaches (Dictyoptera: Blattidae, Blattellidae, and Blaberidae) in Thailand. *Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health*, vol 38, n. 4, 2007.

TOMAZONI, E.Z.; PAULETTI, A.F.; RIBEIRO, R.T.S.; SCHWAMBACH, J. Atividade antifúngica in vitro dos óleos essenciais de *Pinus elliottii* e *Pinus Taeda* sobre o fungo patógeno de tomateiro *Alternaria solani sorauer*. *Caderno pedagógico, Lajeado*, v. 11, n. 1, p. 68-77, 2014.

VIEGAS JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova*, vol. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VON HERTWIG, I.F. *Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem, comercialização*. 2 ed. São Paulo: Ícone, 414 p., 1991.

VON POSER, G.L.; MENTZ, L.A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5ª edição – Porto Alegre; Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS; Ed. UFSC; 833 p., 2003.

XIE, J.; XIAO, X.; FU, Y.; LIU, H.; CHENG, J.; GHABRIAL, S.A.; LI, G.; JIANG, D., A novel mycovirus closely related to hypoviruses that infects the plant pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*, *Virology* v. 418, p.49–56, 2011.

XIMENES, L.R. A importância e o manejo da *Sclerotinia sclerotiorum* (Mofo Branco) em cultivos de espécies suscetíveis. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 59 f. Monografia, 2013.

WATERMAN, P.G. 1993. The chemistry of volatile oils. In: Hay, R.K.M. & Waterman, P.G. (eds.). *Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production*. Avon: Iorigman Group, pp. 47-61, 1993.

WHIPPS, J.M.; LUMSDEN, R.D.; Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects. In: BUTT, T.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (Eds), *Fungal Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*, CABI Publishing, Wallingford. Pp. 9-22, 2001.

ZHANG, Y.L., HAN, Y.C., AYTULUN, S., Analysis of essential oil from Kunlun Chrysanthemum by GC-MS. J. Xinjiang Med. University v.30, p.1299-1230, 2010.

ZHOU, X.Y., GONG, H.Y., XU, T.H., TIAN, S.G., Physicochemical evaluation and essential oil composition analysis of *Hyssopus cuspidatus* Boriss from Xinjiang, China. Phcog. Mag. v.6, p.278-281, 2011.