

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ILZENAYDE DE ARAÚJO NEVES

Efeito de óleos essenciais de espécies aromáticas que ocorrem no bioma de Pernambuco sobre o Ácaro Rajado (*Tetranychus urticae*)

Dissertação apresentada pela discente Ilzenayde de Araújo Neves sob a orientação do Prof. Dr. Cláudio Augusto Gomes da Camara, ao **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de **Mestre em Química**.

RECIFE
PERNAMBUCO – BRASIL
JULHO 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Efeito de óleos essenciais de espécies aromáticas que ocorrem no bioma de Pernambuco sobre o Ácaro Rajado (*Tetranychus urticae*)

Por: ILZENAYDE DE ARAÚJO NEVES

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de **Mestre em Química** e aprovada em 29/07/2011 pelo Programa de Pós-Graduação em Química, em sua forma final.

Banca Examinadora:

Prof^o. Dr. Cláudio Augusto Gomes da Câmara
Orientador – DQ/UFRPE

Prof^o. Dr. Clécio Souza Ramos
Co-Orientador – DQ/UFRPE

Prof^o. Dr. João Rufino de Freitas Filho
Membro interno /UFRPE

Prof^o. Dr. Roberto de Vasconcelos Antunes
Membro interno/UFRPE

Prof^a. Dra. Lourinalda Luiza Dantas Da Silva
Membro externo/UAST/UFRPE

Prof^o. Dr. Ronaldo Nascimento de Oliveira
Suplente, Membro interno – DQ/UFRPE

“O bem pode se propagar
quando os homens deixarem
o egoísmo de lado,
reconquistarem a humildade
e aprenderem a se respeitar”

Ponto de equilíbrio

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Edilson Gomes das Neves e Ilvamys de Araújo Neves (*In memoriam*), por auxiliar na formação da minha personalidade, sempre com exemplos e palavras de conforto durante minha educação.

Aos meus irmãos, Eliane Neves, Edilson Júnior e Izabella Neves que sempre me auxiliaram quando necessário.

Ao meu esposo, Marcelo Ferreira que desde o princípio sempre me incentivou e não deixou que desistisse no meio da caminhada, com seus conselhos e opiniões.

Aos Meus amigos Marcílio Moraes e Cristianne Gomes que não me deixaram desistir do meu sonho.

AGRADECIMENTOS

A minha família que sempre me compreenderam e apoiaram em todas as minhas decisões.

Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado em tantos momentos. Quero agradecer em especial a Marcílio, José Cândido, Cristianne, Telma, Rodolfo, Magali, Nicolle, Flávia e Mário, por todo companheirismo.

Ao Prof. Dr. Cláudio Augusto Gomes da Câmara, orientador deste trabalho, pelo exemplo de pesquisador, incentivador, por acreditar na realização da pesquisa, por todo o suporte dado nesta caminhada e por toda a amizade que desenvolvemos no decorrer deste tempo.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Departamento de Química, pela oportunidade de desenvolver este trabalho de pesquisa, especialmente à pessoa do coordenador. A todos os Prof^o. do Mestrado, que foram decisivos e contribuíram grandemente para a minha formação.

À funcionária Ana Amâncio, do Programa de Pós-Graduação em Química pela presteza e simpatia com a qual sempre nos atendia.

RESUMO

O presente trabalho investiga a composição química do óleo essencial das espécies: *Croton jacobinensis*, *C. micans*, *C. rhamnifolius*, *C. muscicapa*, *C. pulegioides*, *C. rhamnifolius var. helliotropiifolius*, *Eugenia uvalha*, *C. sellowii* e avalia o potencial acaricida das espécies: *C. jacobinensis*, *C. micans*, *C. rhamnifolius*, *C. muscicapa*, *E. uvalha* e *C. sellowii*. Os constituintes químicos majoritários identificados nos óleos das diversas partes das espécies foram: (*Z*)- α -atlantona (24,3%, folhas *C. jacobinensis*), e *Trans*-isolongifolanona (22,8%, caule, *C. jacobinensis*), α -bulneseno (32,9%, folhas, *C. micans*), guaiol (17,9%, caule, *C. micans*), α -epóxido cedreno (23,3%, folhas, *C. rhamnifolius*), Cânfora (16,6%, caule, *C. rhamnifolius*), Foeniculina (50,6%, folhas, e 72,7%, caule, *C. muscicapa*), 1,8-cineol (15,56%, folhas, *C. pulegioides*), α -calacoreno (12,95%, caule, *C. pulegioides*), β -cariofileno (20,82%, folhas, *C. rhamnifolius var. helliotropiifolius*) e guaiol (18,38%, caule, *C. rhamnifolius var. helliotropiifolius*). No óleo essencial da espécie *E. uvalha* os compostos identificados em maior percentual foram o β -cariofileno (24,3% nas folhas e 33,6% nas flores) e óxido de cariofileno (42,4%) no caule. Na espécie *C. sellowii* o constituinte majoritário identificado foi o β -cariofileno (33,5%; 20,9% e 41,2%) nas folhas, caule e flores, respectivamente. Ambos os óleos testados apresentaram atividade acaricida contra *Tetranychus urticae*, o melhor resultado para atividade de fumigação foi descrita para as folhas de *E. uvalha* e caule de *C. rhamnifolius* (ambos com CL_{50} de 0,20 μ L/L de ar), seguido do óleo do caule de *C. jacobinensis* (CL_{50} =0,30 μ L/L de ar). Para o teste de contato o melhor resultado foi relatado para o óleo do caule do *C. sellowii* (CL_{50} =0,53 μ L/mL). Enquanto que para o teste de repelência o óleo das folhas de *C. sellowii* demonstrou um melhor resultado com uma CR_{50} de 0,009 μ L/cm². Para o teste de dupla-escolha, ambos os óleos testados demonstraram uma preferência dos ácaros em ir para o disco não tratado até 24h de exposição e uma preferência de ovipositar no disco não tratado mesmo após 48h de experimento. Com esses resultados todos os óleos avaliados apresentaram potencial para ser usado no manejo integrado do ácaro.

PALAVRAS-CHAVE: Composição química, atividade acaricida, *Croton*, *Eugenia* e *Tetranychus urticae*.

ABSTRACT

This study inquiry the chemical composition of essential oil of *Croton jacobinensis*, *C. micans*, *C. rhamnifolius*, *C. muscicapa*, *C. pulegioides*, *C. rhamnifolius var. helliotropiifolius*, *Eugenia uvalha*, *C. sellowii* species as well as evaluates the acaricide potential of *C. jacobinensis*, *C. micans*, *C. rhamnifolius*, *C. muscicapa*, *E. uvalha* and *C. sellowii* species. The major chemical constituents identified in essential oils obtained of diverse tissues from the *Croton* species were: (*Z*)- α -atlantone (24.3%, leaves, *C. jacobinensis*), *Trans*-isolongifolanone (22.8%, stem, *C. jacobinensis*), α -bulnesene (32.9%, leaves, *C. micans*), guaiol (17.9%, stem, *C. micans*), α -Cedrene epoxide (23.3%, leaves, *C. rhamnifolius*), camphor (16.6%, stem, *C. rhamnifolius*), foeniculin (50.6%, leaves, and 72.7%, stem, *C. muscicapa*), 1.8-cineole (15.56%, leaves, *C. pulegioides*), α -calacoreno (12.95%, stem, *C. pulegioides*), β -caryophyllene (20.82%, leaves, *C. rhamnifolius var. helliotropiifolius*) and guaiol (18.38%, stem, *C. rhamnifolius var. helliotropiifolius*). It were identified the compounds β -caryophyllene (24.3%) and (33.6%) of essential oils from leaves and flowers of *E. uvalha*, respectively, and caryophyllene oxide (42.4%) constituent of its stems. The major component identified on *C. sellowii* was β -caryophyllene (33.5%, 20.9% and 41.2%) in the leaves, stem and flowers, respectively. The essential oils showed acaricidal activity against *Tetranychus urticae*. The better response for fumigation activity was founding for the leaves of *E. uvalha* and stem of *C. rhamnifolius* (both LC_{50} of 0.20 μ L / L air), followed by oil from stem of *C. jacobinensis* (LC_{50} = 0.30 μ L / L air). For the best patch test result was reported from the oil of the stem of *C. sellowii* (LC_{50} = 0.53 mL / mL). While for the test repellent essential oil from leaves of *C. sellowii* showed a better result with a RC_{50} of 0.009 μ L/cm². For the dual-choice test, both oils tested showed a preference for the mites to go untreated until 24 hours drive of exposure and a preference to oviposit in untreated hard even after 48 hours of experiment. With these results all oils evaluated had the potential to be used in the integrated management of the mite.

KEY WORDS: Chemical composition, acaricidal activity, *Croton*, *Eugenia* and *Tetranychus urticae*.

LISTA DE FIGURAS

	Pg.
Figura 1. Mapa de Biomas do Brasil	01
Figura 2. Componentes majoritários das folhas e caule de quatro <i>Croton</i>	29
Figura 3. Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos de adultos fêmeas de <i>Tetranychus urticae</i> em diferentes concentrações dos óleos essenciais de <i>Croton</i> .	41
Figura 4. Componentes majoritários do <i>Croton pulegioides</i>	53
Figura 5. Componentes majoritários do <i>Croton rhamnifolius</i> var. <i>heliotropiifolius</i>	54
Figura 6. Componentes majoritários da <i>Eugenia uvalha</i>	60
Figura 7. Mortalidade (%) e redução na quantidade ovos de adultos fêmeas de <i>Tetranychus urticae</i> em diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Eugenia uvalha</i> , de seus constituintes majoritários e do controle positivo (Eugenol)	63
Figura 8. Curva de concentração-mortalidade para fêmeas de <i>T. urticae</i> submetidas à fumigação com óleo essencial de <i>E. uvalha</i> e aos compostos β -cariofileno, α -humuleno, óxido de cariofileno e eugenol.	66
Figura 9. Atividade de contato com placas fechadas do óleo essencial das folhas de <i>E. uvalha</i> , dos constituintes majoritários e do controle positivo (Eugenol) sobre fêmeas adultas de <i>T. urticae</i> .	70
Figura 10. Curva concentração-mortalidade para fêmeas de <i>T. urticae</i> submetidas à contato com o óleo essencial das folhas de <i>E. uvalha</i> , β -	72

cariofileno e óxido de cariofileno

Figura 11. Curva de concentração-repelência para fêmeas de *T. urticae* 76 submetidas ao óleo essencial de *E. uvalha* e ao controle positivo.

Figura 12. % de repelência do óleo essencial das folhas de *E. uvalha* e 76 dos constituintes β -cariofileno e óxido de cariofileno na concentração de $5,09\mu\text{L}/\text{cm}^2$.

Figura 13. Cromatogramas do óleo essencial de *E. uvalha* com Zero, 1, 78 12, 24 e 48h de volatilidade.

Figura 14. Número médio de ácaros nos discos de folhas tratados e 82 não tratados com óleo essencial de *E. uvalha*, óxido de cariofileno, α -humuleno e β -cariofileno em 1, 12, 24 e 48h após o tratamento.

Figura 15. Número médio de ovos nos discos de folhas tratados e não 84 tratados com óleo essencial de *E. uvalha*, óxido de cariofileno, α -humuleno e β -cariofileno em 1, 12, 24 e 48h após o tratamento.

Figura 16. Componentes majoritários do *Croton sellowii* 91

Figura 17. Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos de 93 adultos fêmeas de *Tetranychus urticae* em diferentes concentrações dos óleos essenciais de folha e caule do *Croton sellowii*, de seus constituintes e do controle positivo (Eugenol).

Figura 18. Curva de concentração-mortalidade para fêmeas de *T.* 96 *urticae* submetidas à fumigação com óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* e aos compostos β -cariofileno e óxido de cariofileno e controle positivo(eugenol).

Figura 19. Atividade de contato com placas fechadas do óleo essencial 101 das folhas e caule de *C. sellowii*, dos constituintes e do controle positivo

(Eugenol) sobre fêmeas adultas de *T. urticae*.

Figura 20. Curva concentração-mortalidade para fêmeas de *T. urticae* 104 submetidas à contato com o óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii*, β -cariofileno, óxido de cariofileno e eugenol.

Figura 21. Curva de concentração-repelência para fêmeas de *T. urticae* 107 submetidas ao óleo essencial de folhas e caule de *C. sellowii* e do eugenol.

Figura 22. % de repelência dos óleos essenciais das folhas (4,07 109 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) e caule de *C. sellowii* (5,09 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) e dos constituintes β -cariofileno e óxido de cariofileno nas mesmas concentrações.

Figura 23. Cromatogramas do óleo essencial de *C. sellowii* folha com 111 Zero, 1, 12, 24 e 48h de volatilidade.

Figura 24. Cromatogramas do óleo essencial de *C. sellowii* caule com 112 Zero, 1, 12, 24 e 48h de volatilidade.

Figura 25. Número médio de ácaros nos discos de folhas tratados e 115 não tratados com óleos essenciais de *C. sellowii*, óxido de cariofileno e β -cariofileno em 1, 12, 24 e 48h após o tratamento.

Figura 26. Número médio de ovos nos discos de folhas tratados e não 118 tratados com óleos essenciais de folha e caule de *C. sellowii*, óxido de cariofileno e β -cariofileno em 1, 12, 24 e 48h após o tratamento.

LISTA DE TABELAS

	Pg.
Tabela 1. Rendimento percentual dos óleos essenciais e dos constituintes químicos identificados das folhas e caule de quatro <i>Croton</i>	30
Tabela 2. Ação fumigante dos óleos de quatro <i>Croton</i> e eugenol contra fêmeas adultas de <i>Tetranychus urticae</i> .	43
Tabela 3. Rendimento percentual da composição química do <i>Croton pulegioides</i> e <i>Croton rhamnifolius</i> var. <i>heliotropiifolius</i>	46
Tabela 4. Percentual da composição de terpenóides e fenilpropanóides identificados nos óleos de <i>Croton</i>	51
Tabela 5. Percentual de constituintes químicos de diferentes partes de <i>Eugenia uvalha</i> .	57
Tabela 6. Ação fumigante do óleo essencial das folhas de <i>Eugenia uvalha</i> e de seus constituintes majoritários contra fêmeas adultas de <i>Tetranychus urticae</i> .	65
Tabela 7. Toxicidade de contato do óleo essencial das folhas de <i>E. uvalha</i> e dos constituintes β -cariofileno e Óxido de cariofileno e o controle positivo (Eugenol) sobre fêmeas adultas de <i>T. urticae</i> .	72
Tabela 8. Atividade repelente do óleo essencial das folhas de <i>E. uvalha</i> sobre fêmeas adultas de <i>T. urticae</i>	75
Tabela 9. Valores médios do número de ácaros e de ovos de <i>T. urticae</i> , após 1, 12, 24 e 48h de exposição ao óleo essencial de <i>Eugenia uvalha</i> , β -cariofileno, α -humuleno e óxido de cariofileno.	79
Tabela 10. Percentual de constituintes químicos de diferentes partes de	87

Croton sellowii.

Tabela 11. Ação fumigante dos óleos essenciais das folhas e caule do *Croton sellowii* e de seus constituintes contra fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*. 95

Tabela 12. Toxicidade de contato do óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* e dos constituintes β -cariofileno e Óxido de cariofileno e do controle positivo (eugenol) sobre fêmeas adultas de *T. urticae*. 103

Tabela 13. Atividade repelente do óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* sobre fêmeas adultas de *T. urticae*. 107

Tabela 14. Valores médios do número de ácaros e de ovos de *T. urticae*, após 1, 12, 24 e 48h de exposição ao óleo essencial de folhas e caule de *Croton sellowii*, β -cariofileno e óxido de cariofileno. 113

LISTA DE ABREVIATURAS

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

CG – Cromatografia gasosa

CG/EM – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

UFRPE – Universidade Federal Rural de Pernambuco

IR – Índice de retenção

IPNI – The International Plant Names Index

IC – Intervalo de confiança

RT – Razão de toxicidade

CL₅₀ – Concentração letal media

CR₅₀ – Concentração repelente media

UR – Umidade relative

DP – Desvio-Padrão

SUMÁRIO

	Pg.
1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Revisão da literatura	07
1.1.1. Estudo químico e biológico do óleo essencial de espécies do gênero <i>Croton</i>	07
1.1.2. Estudo químico e biológico do óleo essencial de espécies do gênero <i>Eugenia</i>	11
1.2. Justificativa	13
1.3. Objetivos	15
1.3.1. Geral	15
1.3.2. Específicos	15
2. MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1. Material Vegetal	17
2.2. Obtenção dos Óleos Essenciais	18
2.3. Métodos cromatográficos	18
2.3.1. Cromatografia gasosa	18
2.3.2. Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas	19

2.3.3.	Identificação Química dos Compostos	19
2.4.	Bioensaios	19
2.4.1.	Criação do ácaro rajado	19
2.4.2.	Bioensaio de Fumigação	20
2.4.3.	Bioensaio de Contato	21
2.4.4.	Bioensaio de Repelência	23
2.4.5.	Bioensaio de Dupla Escolha	24
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
3.3.	Atividade Acaricida contra <i>Tetranychus urticae</i> e composição do óleo essencial de quatro espécies de <i>Croton</i> do bioma Caatinga do Nordeste Brasileiro	25
3.4.	Constituintes voláteis de duas espécies de <i>Croton</i> do bioma Caatinga de Pernambuco – Brasil	45
3.5.	Composição química e ação acaricida do óleo essencial da <i>Eugenia uvalha</i> Cambess sobre o ácaro rajado (<i>Tetranychus urticae</i> Koch).	56
3.6.	Composição química e ação acaricida dos óleos essenciais do <i>Croton sellowii</i> Baill. sobre o ácaro rajado (<i>Tetranychus urticae</i> Koch).	86
4.	CONCLUSÃO	120

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

122

ANEXO I

ANEXO II

1. INTRODUÇÃO

São encontradas em território brasileiro, cerca de 10% das espécies descritas em todo o planeta. Este importante acervo de recursos genético coloca o Brasil no grupo dos países denominados de megadiversos. Aproximadamente, 22% das espécies angiospermas são encontradas no Brasil e destas, cerca de 55 mil espécies já foram identificadas e estão distribuídas nas diferentes formações vegetais do país (BICUDO & MENEZES, 1996).

As regiões geográficas, que apresentam as condições ambientais específicas, determinando a flora e a fauna características dessas regiões é denominada de Biomas. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) são encontrados no Brasil 6 biomas distintos (Figura 1)



Figura 1. Mapa de Biomas do Brasil (<http://www.ibge.gov.br> acessado em 17 de agosto de 2010)

No Nordeste, dois biomas se destacam na biodiversidade de plantas. O primeiro é o bioma Mata Atlântica. Esse bioma é o terceiro maior do Brasil que se estende por 4.000 km pela costa Atlântica entre o Rio Grande do Norte e Rio Grande do Sul. Segundo Conservation International, é um dos 5 “hotspots” de biodiversidade mais valiosos da Terra. Compreende a segunda maior Reserva da Biosfera no mundo com aproximadamente 600 das 900 unidades de conservação brasileiras. A flora da Mata Atlântica é exuberante. Com mais de 450 espécies de árvore/hectare (100 x 100 m) em alguns lugares, a biodiversidade é maior que na Amazônia. Sua estrutura e composição variam conforme a altitude, os solos, a temperatura e as precipitações. No nível do mar, ocorrem florestas de planície, mata ciliar e ecossistemas marinhos, fluviais e marinho-fluviais, como manguezais e restinga. No Nordeste brasileiro a Floresta Atlântica, embora se pareça mais degradada quando comparada com outras regiões do Brasil, é considerada uma significativa área da América do Sul (SILVA & TABARELLI, 2000).

Outro bioma característico do Nordeste brasileiro é o bioma Caatinga. A vegetação é composta principalmente por árvores e espécies arbustivas de pequeno porte que são bem adaptadas às drásticas condições climáticas (SAMPAIO, 1995). Tais florestas são ricas em arbustos aromáticos e árvores pertencendo a vários gêneros, como: *Eugenia* (OLIVEIRA *et al*, 2005), *Piper* (OLIVEIRA *et al*, 2006), *Croton* (SILVA *et al*, 2008), *Protium* (PONTES *et al*, 2007a,b), *Xylopia* (PONTES *et al*, 2007c) as quais possuem espécies que não foram ainda investigadas quanto ao potencial biológico e químico do óleo essencial.

O gênero *Croton* é um dos maiores gêneros da família Euphorbiaceae com cerca de 1.300 espécies de ervas, arbustos e árvores. No Brasil cerca de 300 espécies são amplamente distribuídas ao longo de regiões semi-áridas, praias de florestas tropicais (HEYWOOD, 1993). Estas plantas são encontradas em pântanos nas áreas de Caatinga de Pernambuco, Brasil (ALBUQUERQUE & ANDRADE, 2002). Espécies deste gênero são arbustos ou subarbusto de até dois metros de altura, com látex e óleo essencial incolor, eles são relatados por serem ricos em terpenóides (óleos essenciais e diterpenos) e alcalóides (derivados indólicos e, principalmente, isoquinolina) (ISMAN, 2000). Estudos sistemáticos sobre a química dos óleos essenciais de algumas das espécies brasileiras deste gênero têm sido realizados e foram caracterizados por conter principalmente α , β -pineno e β -cariofileno como principais componentes (RADULOVIC *et al*, 2006). Estes componentes são responsáveis pelo seu aroma, que geralmente é encontrada em todas as partes da planta. (RANDAU *et al*, 2004).

Espécies desse gênero são freqüentemente utilizadas na medicina popular na preparação de remédios caseiros para aliviar a dor, vômito e diarreia sanguinolenta (BRAGA, 1976; RANDAU *et al*, 2004).

Outro gênero com ampla distribuição no Brasil e na Caatinga e em fragmentos de mata atlântica é o gênero *Eugenia*. Esse gênero é um dos maiores da família Myrtaceae, com mais 350 espécies ocorrendo no Brasil (LANDRUM & KAWASAKI, 1997). Várias espécies de *Eugenia* são apreciadas por apresentarem frutos comestíveis, como *E. uniflora* (pitanga) e *E. involucrata* (cereja), outros por suas propriedades medicinais, como antidiurético (*E. uniflora*) e anti-diabético (*E. jambolana*) (PIO CORREA, 1984); algumas

espécies são relatadas por suas propriedades inseticidas como a *E. uniflora* contra o gorgulho do milho (COITINHO *et al*, 2011) e como acaricida, *E. caryophyllata* contra o ácaro da poeira (WU *et al*, 2010) e contra o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) e seu ácaro predador (*Phytoseiulus persimilis*) (CHOI *et al*, 2004).

Considerando a grande abundância de plantas aromáticas nos biomas do Nordeste e a possibilidade de encontrar substâncias de origem natural para uso no manejo integrado de pragas (SUNDARAM *et al*, 1995; OLIVEIRA *et al*, 1999), esforços estão sendo empreendidos na busca de substâncias com propriedades inseticidas, repelentes ou que atuem diretamente na interrupção dos ciclos biológicos de pragas. Dentre esses produtos podem-se mencionar os óleos essenciais.

Espécies aromáticas caracterizam-se pela produção de óleos essenciais, o qual devido a sua alta volatilidade e possível ação fumigante podem ser usados para o controle de pragas instaladas em casas de vegetação (ASLAN *et al*, 2004) como alternativa aos fumigantes convencionais: fosfina e brometo de metila, que apresentam efeitos indesejáveis aos inimigos naturais, ao meio ambiente e à saúde humana.

Os ácaros de interesse agrícola são pragas que provocam grandes prejuízos para os pequenos agricultores. Dentre eles, destaca-se o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: TETRANYCHIDAE), que ocorrem em casa de vegetação ou no campo atacando uma grande variedade de culturas economicamente de valor nutritivo ou ornamental em todo o mundo e no

Estado de Pernambuco (POTENZA *et al*, 1999a,b), principalmente nas culturas do mamão, videira (GALLO *et al*, 2002), tomate (FLECHTMANN, 1989), etc.

Os acaricidas sintéticos têm sido amplamente usados nas plantações pela sua alta eficiência na eliminação de pragas (BARAKAT *et al*, 1986 & POTENZA *et al*, 1999a,b). Para muitas lavouras, estes acaricidas são as principais formas de controle de algumas pragas (SILVA *et al*, 2003). Entretanto, o seu uso indiscriminado tem agredido bastante o ecossistema, uma vez que sua alta toxicidade afeta não só as pragas alvo como também espécies benéficas, aumentando a possibilidade de surgimento de espécies resistentes (GONÇALVES, 1997; GONÇALVES *et al*, 2001a), além de contaminar as culturas com resíduos tóxicos (OLIVEIRA *et al*, 1999). Este tratamento foi considerado eficiente no controle do ácaro verde *Monocyclus tanajoa* (Bondar) no Estado de Pernambuco (GONÇALVES *et al*, 2001a). No entanto, a utilização de inseticidas sintéticos no controle de ácaros é economicamente inviável na região, possibilitando a ocorrência de efeitos adversos em consequência de seu uso continuado (GONÇALVES *et al*, 2001a).

A busca por propriedades inseticidas em plantas medicinais tem crescido bastante nos últimos anos, tornando-se uma forma promissora na descoberta de novas espécies vegetais como agentes fumigantes. A utilização dos inseticidas de origem vegetal merece destaque dentre os métodos alternativos ao controle químico convencional, pelos aspectos de segurança e pela conservação do equilíbrio do agroecossistema. Devido a sua alta volatilidade, os óleos essenciais podem ser usados para o controle de pragas de ambientes fechados, como por exemplo, em casas de vegetação ou na

preparação de formulações para serem utilizados em ambientes abertos (ASLAN *et al*, 2004). Recentemente, estudos com óleos essenciais foram conduzidos com o intuito de se avaliar suas propriedades contra vários artrópodes, para verificar seu potencial inseticida (SILVA *et al*, 2008; COITINHO *et al*, 2011,) e inclusive acaricida (ARAÚJO-JÚNIOR *et al*, 2010; PONTES *et al.*, 2007a,b,c).

Considerando a escassez de trabalhos relacionados à ação acaricida de óleos essenciais de espécies pertencentes aos generos *Croton* e *Eugenia*, esse trabalho tem por objetivo determinar a composição química dos óleos essenciais de *Croton muscicapa*, *C. pulegioides*, *C. heliotropiifolius*, *C. jacobinenensis*, *C. rhamnifolius*, *C. micans*, *C. sellowii* e *Eugenia uvalha* e avaliar suas ações letais e subletais sobre o ácaro rajado.

1.1. Revisão da literatura

1.1.1. Estudo químico e biológico do óleo essencial de espécies do gênero *Croton*

De acordo com o levantamento bibliográfico feito no banco de dados SciFinder (Chemical Abstract) no dia 13 de abril de 2011, usando como palavra-chave o termo: “*Croton*” seguido de “Essential Oil”, foram encontrados 157 artigos referentes aos relatos de óleos essenciais de espécies do gênero *Croton*, porém apenas 91 artigos se referiram a composição química do óleo essencial.

Com base no levantamento para composição química do óleo de espécies do gênero *Croton*, os locais onde as espécies foram coletadas para estudo restringem-se aos países: Brasil, Venezuela, Equador, Colômbia, Etiópia, Nigéria, China, Costa Rica, Coreia, Vietnã, Madagascar, Cuba, Benin, Guadalupe, Quênia, Argentina, Camarões, Antilhas, Golfo da Guiné, África, Estados Unidos, Sudão e Alemanha. Os estudos com espécies de *Croton* coletadas no Brasil são relatados nos estados: Ceará, Mato grosso do sul, Sergipe, Pará, Rio de Janeiro, Bahia, Pernambuco, Piauí, Amazonas e Minas gerais.

Levando em consideração o conteúdo dos artigos, aproximadamente 40,6% relatam apenas a composição química dos óleos essenciais extraídos de várias partes da planta de diferentes regiões do mundo. As matrizes vegetais que serviram para obtenção de óleo essencial (folhas, flores, raízes, caule e frutos) variaram de planta para planta. Destas, a mais explorada foi a

folha. Do total de artigos, cerca de 60,4% exploram além da composição química, o potencial biológico desses óleos.

Dentre os vários estudos biológicos realizados com esses óleos essenciais, os principais foram voltados para avaliar o potencial antimicrobiano (15 artigos encontrados), inseticida (10), tratamento de broncoespasmo (1), leshimanicida (2), anticancer (1), antitumoral (2), hepatotoxicidade (1), antiúlcera (1), citotóxico (1), efeito vasorelaxante (5), tratamento gastrointestinal (1), antioxidante (1), nematocida (2), efeito cardiovascular (2), efeito antinocepcivo (3), antidepressivo (1), atividade no Sistema nervoso central (SCN) (2), antiespasmódico (2), antihiperlipidêmico (1), efeito gastroprotetor (1), efeito relaxante intestinal (1), efeito sobre o músculo esquelético (1) e anestésico (1). Desta a mais explorada foi a antimicrobiana e inseticida.

Os estudos inseticidas com onze espécies de *Croton* de partes diferentes da planta foram na sua maioria destinada à medicina humana.

Cinco artigos foram destinados ao *Aedes aegypti* (mosquito que transmite a dengue), o melhor resultado foi relatado para as folhas do *C. regelianus* coletados em Ceará-Brasil com CL_{50} de 24,22 ppm (TORRES *et al*, 2008), enquanto que o resultado menos expressivo foi relatado por Doria *et al* (2010) em seu estudo com as folhas do *C. heliotropiifolius* coletado em Sergipe-Brasil com uma CL_{50} de 544ppm. Moraes *et al* (2006) estudou apenas folhas de quatro espécies diferentes coletadas no Ceará-Brasil (*C. zehneri*- CL_{50} =28ppm, *C. nepetaefolius*=84ppm, *C. argyrophyloides*=102ppm e *C. sonderianus*=104ppm), enquanto que Santos *et al* (2007) realizou o estudo de apenas uma espécie (*C. zehneri*) porém com folha, caule e inflorescência coletados em Ceará-Brasil

tendo como CL₅₀ 56,2ppm, 51,3ppm e 57,5ppm, respectivamente. De Paula *et al* (2010) realizou estudos com folhas de *C. zehneri* coletados em Ceará-Brasil e obteve uma CL₅₀ de 85ppm e Doria *et al* (2010) relatou em seu estudo uma CL₅₀ de 159ppm para as folhas de *C. pulegioides* coletados em Sergipe-Brasil.

Foram encontrados dois artigos foram referentes ao *Anaphole gambiae* (Mosquito que transmite a malária), ambos os estudos foram realizados com folhas coletadas no Quênia, Odalo *et al* (2005) realizou um estudo de repelência para o *C. pseudopulchellus* obtendo como CR₅₀ 3,74mg/cm², enquanto que Omolo *et al* (2005) realizou o ensaio fumigante obtendo uma CL₅₀ de 24mg/cm².

Há relatos de dois artigos direcionados para interesse agrícola com teste para o controle de *Cadra cautella* (Praga de grãos armazenados) onde foi realizado a atividade fumigante com folhas de *C. eluteria* coletadas na Coreia (CL₅₀ de 77,3 mg/cm²) (SIM *et al*, 2006); e testes com *Zabrotes subfasciatus* (Praga de grãos armazenados) estudo fumigante com folhas e caule de *C. grewioides* coletadas em Pernambuco-Brasil que obtiveram CL₅₀ de 4,0 e 13,7µL/L de ar, respectivamente (SILVA *et al*, 2008).

No total, 64 espécies diferentes do gênero *Croton* tem sido investigada quanto a composição e/ou potencial biológico do óleo essencial. Referente à composição química desses óleos essenciais, 111 compostos diferentes são encontrados com percentual igual ou acima de 5%. A classe química dos sesquiterpenos é predominante, representando 57,6% dos compostos encontrados com percentual superior 5%, dentre eles o principal é o β-cariofileno presente na composição química de 23 espécies diferentes, sendo

assim o composto encontrado no maior número de espécies do gênero *Croton*, e o biciclogermacreno presente em quinze espécies diferentes. A classe química dos monoterpenos (representando 32,4% dos compostos encontrados com percentuais $\geq 5\%$) tem o α -pineno ($\geq 5\%$) presente em dezenove espécies diferentes e o 1,8-cineol ($\geq 5\%$) encontrado em onze espécies diferentes.

1.1.2. Estudo químico e biológico do óleo essencial de espécies do gênero *Eugenia*

De acordo com o levantamento bibliográfico feito no banco de dados SciFinder (Chemical Abstract) no dia 18 de maio de 2011, usando como palavra-chave o termo: “*Eugenia*” seguido de “Essential Oil” e “Composition”, foram encontrados 85 artigos referentes aos relatos de óleos essenciais de espécies do gênero *Eugenia*, porém apenas 61 artigos se referiram a composição química do óleo essencial.

Com base no levantamento para composição química do óleo de espécies do gênero *Eugenia*, os locais onde as espécies foram coletadas para estudo restringem-se aos países: Brasil, Croácia, Espanha, Índia, Itália, Japão, Portugal, Sérvia, Tunísia, Turquia, Argentina, Costa Rica, Cuba, Egito, Tailândia, Uruguai, Venezuela, Alemanha, Bahamas, Nigéria e Vietnã. Os estudos com espécies de *Eugenia* coletadas no Brasil são relatados nos estados: Rio grande do Sul, Ceará, Paraná, Porto alegre, Rio de Janeiro, São Paulo, Goiás, Pernambuco e Santa Catarina.

Levando em consideração o conteúdo dos artigos, aproximadamente 52,4% relatam apenas a composição química dos óleos essenciais extraídos de várias partes da planta de diferentes regiões do mundo. As matrizes vegetais que serviram para obtenção de óleo essencial (folhas, flores, raízes, caule e frutos) variaram de planta para planta. Destas, a mais explorada foi a folha. Do total de artigos, cerca de 47,6% exploram além da composição química, o potencial biológico desses óleos. Dentre os vários estudos biológicos realizados com esses óleos essenciais, os principais foram voltados

para avaliar o potencial Analgésico (1 artigo encontrado), Anti-colinesterase (1), Antiinflamatório (2), Antioxidante (5), Antimicrobiano (20), Citotóxica (4), Hipoglicêmico (1), Inseticida (1), Acaricida (1). Desta a mais explorada foi a antimicrobiana.

O estudo inseticida com as folhas da espécie *E. triquetra* coletados na Venezuela foi direcionado a medicina humana, referentes ao *Aedes aegypti* (mosquito que transmite a dengue) que obteve uma CL_{50} de 64,8ppm (MORA *et al*, 2010); enquanto que a atividade acaricida relatada com os botões da espécie *E. caryophyllata* foi descrito para o controle de *Dermatophagoides farinae* (Ácaro de Poeira) com 100% de mortalidade (WU *et al*, 2010).

No total, 63 espécies diferentes do gênero *Eugenia* tem sido investigada quanto a composição e/ou potencial biológico do óleo essencial. Referente à composição química desses óleos essenciais, 99 compostos diferentes são encontrados com percentual igual ou acima de 5%. A classe química dos sesquiterpenos é predominante representando 67,7% dos compostos encontrados com percentual superior 5%, dentre eles o principal é o β -cariofileno presente na composição química de vinte e uma espécies diferentes e o Globulol presente em treze espécies diferentes. A classe química dos monoterpenos (representando 24,2% dos compostos encontrados com percentuais $\geq 5\%$) tem o α -pineno ($\geq 5\%$) presente em vinte e cinco espécies diferentes, sendo assim o composto encontrado no maior número de espécies do gênero *Eugenia*, e o β - pineno ($\geq 5\%$) encontrado em onze espécies diferentes.

1.2. Justificativa

A falta de seletividade dos inseticidas convencionais para o controle de pragas agrícolas tem acarretado a eliminação dos insetos predadores da praga alvo, levando a sérios desequilíbrios ecológicos. Devido à alta toxicidade destes produtos, principalmente para os mamíferos e a facilidade das pragas adquirirem resistência, o setor agrícola e os órgãos de legislação, proteção ambiental e os ligados às atividades de setores produtivos e comerciais vêm incentivando e estimulando a substituição gradual destes produtos pelos os de origem natural. Com o objetivo de seguir estes critérios, o Manejo Integrado de Pragas representa, hoje em dia, uma poderosa ferramenta contra as agressões ao meio ambiente, provocadas pelo uso indiscriminado desses inseticidas sintéticos (CROCOMO, 1990). Entre as várias técnicas de controle de pragas que estão em consonância com a natureza, pode-se mencionar a utilização de produtos obtidos a partir de matrizes vegetais, tais como, extratos vegetais, pós de diferentes partes do vegetal, óleos essenciais e uso de compostos puros (GONÇALVES *et al.*, 2001b). Desta forma, torna-se imprescindível o desenvolvimento de tecnologias que propiciem o controle de pragas agrícolas e que não causem impactos sociais e ambientais.

Devido sua alta volatilidade e possível ação fumigante, os óleos essenciais podem ser usados para o controle de pragas instaladas em casas de vegetação ou mesmo em ambientes telados (ASLAN *et al.* 2004). É o caso do *Tetranychus urticae* (Ácaro rajado), uma das pragas de maior importância no mundo, por atacar uma grande variedade de culturas cultivadas em casa de vegetação ou no campo.

Nesse contexto, espécies de plantas que se caracterizam como produtoras de óleos essenciais destacam-se, entre outras, aquelas pertencentes às famílias Euphorbiaceae e Myrtaceae, como por exemplo, espécies previamente selecionadas, nessa dissertação, para avaliação do potencial acaricida: *Croton muscicapa*, *C. pulegioides*, *C. heliotropiifolius*, *C. jacobinenensis*, *C. rhamnifolius*, *C. micans* *C. sellowii* e *Eugenia uvalha*, respectivamente. De acordo com o levantamento bibliográfico realizado para essas espécies, a composição química do óleo essencial de *C. jacobinensis*, *C. rhamnifolius*, e *C. micans* tem sido reportadas anteriormente. Craveiro *et al.* (1981) relatou os componentes voláteis do óleo a partir de folhas de *C. jacobinensis*, *C. rhamnifolius* e *C. micans* a partir de amostras coletadas nos municípios do Nordeste do Brasil: Cocal no Piauí, Pedra Branca no Estado do Ceará e Jacobina no Estado da Bahia, respectivamente. Por outro lado, Compagnone *et al.* (2010) relatam a composição química das folhas e flores de *C. micans* coletados a partir de Santa Elena de Uairen, Estado Bolívar, Venezuela. A literatura reporta o estudo químico do óleo essencial das folhas de *C. sellowii* (DIAS *et al.*, 2006) e *E. pyriformis* (Syn. *E. uvalha*) (IPNI-The International Plant Names Index). Há relatos de ação inseticida do óleo essencial de *E. pyriformis* contra o mosquito *Aedes aegypti* (MORA *et al.*, 2010) e atividade acaricida com o óleo essencial contra o ácaro *Dermatophagoides farinae* com espécies do gênero *Eugenia* (WU *et al.*, 2010). Porém, a ausência de estudo fitoquímico previamente com óleos essenciais de *C. muscicapa*, *C. pulegioides* e *C. rhamnifolius* var. *heliotropiifolius* e o caule de *C. jacobinenensis*; *C. rhamnifolius* e *C. micans*, flores e caule de *C. sellowii* e *E.*

uvalha e o potencial acaricida, contra o ácaro rajado, dos óleos essenciais de todas as espécies, nos motivaram a realização desse estudo.

1.3. Objetivos

1.3.1. Geral

Avaliar o efeito acaricida de óleos essenciais de sete espécies do gênero *Croton* (Euphorbiaceae) e uma do gênero *Eugenia* (Myrtaceae) e de seus constituintes químicos principais (com percentual relativo $\geq 10\%$) sobre a praga cosmopolita, ácaro rajado (*Tetranychus urticae*).

1.3.2. Específicos

1.3.2.1. Mensurar os rendimentos dos óleos essenciais das folhas e caule de *Croton jacobinensis*, *C. rhamnifolius*, *C. micans*, *C. muscicapa*, *C. pulegioides*, *C. rhamnifolius* var. *heliotropiifolius*, *C. sellowii* e *Eugenia uvalha* e Flores de *C. sellowii* e *Eugenia uvalha*.

1.3.2.2. Analisar e identificar os constituintes químicos dos óleos obtidos por Cromatografia gasosa (CG) e Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM) das espécies mencionadas no item anterior.

1.3.2.3. Avaliar a ação letal por Fumigação dos óleos das folhas e frutos de *Croton jacobinensis*, *C. rhamnifolius*, *C. micans*, *C. muscicapa*, *C. sellowii* e *Eugenia uvalha* sobre o *T. urticae*.

1.3.2.4. Avaliar a ação acaricida por Contato do óleo essencial da folha e caule de *Croton sellowii* e da folha de *Eugenia uvalha* sobre adultos de *T. urticae*.

1.3.2.5. Avaliar a Ação sub-letal (Repelência e Dupla-escolha) do óleo essencial da folha e caule de *Croton sellowii* e da folha de *Eugenia uvalha* sobre adultos de *T. urticae*.

1.3.2.6. Avaliar a ação letal e subletal de óxido de cariofileno, β -cariofileno, α -humuleno, constituintes químicos presentes nos óleos essenciais avaliados previamente sobre adultos de *T. urticae*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química e no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia da UFRPE.

2.1. Material Vegetal

Folhas e caule de *Croton jacobinensis* Baill, *Croton rhamnifolius* (Baill.) Müll.Arg. e *Croton micans* (Sw.) Müll.Arg. foram coletadas na região agreste no município de Brejo da Madre de Deus; *Croton muscicapa* Müll.Arg. coletada na região de Caatinga no município de Buíque em Pernambuco; enquanto que folhas e caule de *Croton pulegioides* Baill. e *Croton rhamnifolius* var. *heliotropiifolius* (Kunth) Müll.Arg. foram coletadas, também na região de Caatinga, porém no município de Serra talhada em Pernambuco. Folhas, Caule e flor de *Croton sellowii* Baill foram coletados na região de restinga no município de Cabo de Santo Agostinho em Pernambuco. Folhas, caule e inflorescência de *Eugenia uvalha* Cambess foram coletados no Campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco. As espécies foram identificadas pela Dr. Maria de Fátima de Araújo Lucena do Centro de Saúde e Tecnologia Rural-Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande. Uma amostra destas espécies foi depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho, da UFRPE, sob os números: 45553 = *Croton jacobinensis*; 45552= *Croton rhamnifolius*; 48218 = *Croton muscicapa*; 47070= *Croton micans*; 45622 = *Croton sellowii*; 48216 = *Eugenia uvalha*. As outras amostras foram depositadas no Herbário Geral Mariz, da Universidade Federal

de Pernambuco, sob os números: 33456 = *Croton pulegioides* e 30941 = *Croton rhamnifolius* var. *heliotropiifolius*.

2.2. Obtenção dos Óleos Essenciais

Para a obtenção dos óleos essenciais, folhas, caule e inflorescência das espécies foram, separadamente, trituradas com água destilada e submetidas à hidrodestilação por 2h, utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado. Devido à diferença de densidade, os óleos foram separados da água, e os óleos foram secos com sulfato de sódio anidro e armazenados a +5°C em frascos de vidro vedados, antes da análise química e de serem utilizados nos experimentos. Os rendimentos dos óleos foram realizados em triplicata e calculados com base na massa do material fresco. Os dados de rendimento foram submetidos à análise estatística descritiva para obtenção dos respectivos desvios padrões.

2.3. Métodos cromatográficos

2.3.1. Cromatografia Gasosa

A análise quantitativa foi realizada utilizando um instrumento Hewlett-Packard 5890 Series II CG, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (30m x 0,25mm x 0,25mm) J & W Scientific. A temperatura do forno foi programada de 50 – 250 °C a uma taxa de 3 °C/min. A temperatura do injetor e detector foi 250°C. Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste na velocidade de 1 L/min and 30 p.s.i. no modo split (1:30). O volume de amostra injetada foi 0,5µL de uma solução 1/100 diluída com hexano. A quantidade de cada composto foi calculada a partir da área do pico do composto no CG e expresso em percentagem relativa do total da área do cromatograma. As análises foram

obtidas em triplicata e os resultados foram submetidos à análise estatística descritiva.

2.3.2. Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas

A análise qualitativa por 1108 CG/EM foi realizada em um instrumento Hewlett-Packard CG/EM (CG: 5890 SERIES II/ CGEM: MSD 5971) operando com um impacto eletrônico de 70 eV equipado com a mesma coluna e programa dos experimentos usado no Cromatógrafo gasoso. O gás de arraste usado foi o hélio, a uma razão de 1 mL/min, no modo split (1:30). Volume de amostra injetado: 1 µL de uma solução 1/100 diluída em hexano.

2.3.3. Identificação Química dos Compostos

Os compostos foram identificados com base na comparação dos índices de retenção calculados (VAN DEN DOLL & KRATZ, 1963) com os disponíveis na literatura (ADAMS, 1995), seguida pela comparação do fragmentograma de padrões dos massas reportados na literatura, bem como pela comparação direta das sugestões dos massas disponíveis na biblioteca do computador (Wiley, com 250.000 compostos), contemplando apenas as similaridades entre os fragmentogramas.

2.4. Bioensaios

2.4.1. Criação do Ácaro Rajado

O ácaro rajado foi criado em plantas de feijão-de-porco, *Canavalia ensiformes* (L.), no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia da UFRPE sob condições de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, U.R. $65 \pm 10\%$ e fotofase de

12 h. Para a manutenção da criação, o feijão-de-porco foi plantado em vasos plásticos com capacidade para 5 litros em casa de vegetação. Vinte dias após a abertura do primeiro par de folhas dicotiledonar, os vasos foram levados ao laboratório e a infestação realizada com fêmeas adultas do ácaro originárias da criação.

2.4.2. Bioensaio de Fumigação

A metodologia utilizada para os experimentos de fumigação foi a de Pontes *et al.* (2007a). Recipientes de vidro com capacidade de 2,5L foram utilizados como câmaras de fumigação. Três discos de folha de feijão-de-porco (2,5cm) foram colocados eqüidistantes em uma placa de Petri (9cm) contendo um disco de papel de filtro saturado com água para evitar a fuga dos ácaros e manter a turgidez das folhas. Em cada disco de folha foram colocadas 10 fêmeas adultas do ácaro rajado. Cada placa de Petri foi colocada em uma câmara de fumigação, resultando em 30 ácaros por câmara de fumigação. Os óleos essenciais e os constituintes majoritários foram aplicados com o auxílio de pipetas automáticas em tiras de papel de filtro (10 x 2cm) presas à superfície interna da tampa da câmara de fumigação. As concentrações utilizadas variaram de $6,4 \times 10^{-5}$ a 28 $\mu\text{L/L}$ de ar, de acordo com a atividade do óleo. A diluição dos óleos foi feita com a adição de diclorometano. No controle foi aplicado apenas diclorometano. Eugenol foi utilizado como controle positivo. Para cada concentração foram utilizadas três repetições, sendo cada repetição uma câmara de fumigação contendo uma placa de Petri com 30 ácaros. As avaliações foram realizadas após um período de 24h de exposição. Os ácaros incapazes de caminhar uma distância superior ao comprimento do seu corpo

após um leve toque com a extremidade de um pincel de cerdas finas foram considerados mortos. A deterrência de oviposição foi avaliada através da contagem do número de ovos e os dados transformados em $\sqrt{x+0,5}$. O delineamento foi inteiramente casualizado. Os dados obtidos para mortalidade e deterrência de oviposição, após atenderem aos testes de normalidade e homogeneidade de variância, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste 1144 de Tukey a 5% de probabilidade através do programa estatístico SAS (SAS Institute 2002). Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit e as concentrações letais (CL_{50s}) estimadas utilizando-se o programa POLO - PC (LEORA, 1987). A metodologia de Robertson & Preisler (1992) foi utilizada para o cálculo das razões de toxicidade, com seus respectivos intervalos de confiança a 95%, sendo consideradas significativas quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0. Devido ao baixo rendimento obtido para o óleo essencial das espécies de *C. jacobinensis*, *C. rhamnifolius*, *C. micans* e *C. muscicapa* apenas o experimento de fumigação foi realizado.

2.4.3. Bioensaio de Contato

O método de “pincelagem” em disco de folha descrito por Miresmailli *et al.* (2006) foi usado para avaliar a toxicidade de contato dos óleos essenciais e dos constituintes majoritários. Foram utilizados discos de folha de feijão-deporco com 2,5cm. As concentrações utilizadas variaram de 0,1 a 80 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, sendo as soluções preparadas através da diluição dos óleos ou eugenol em água destilada utilizando como dispersante, Tween 20 (0,1%). Uma alíquota de 20 μL de cada concentração foi espalhada, com uma pipeta automática, sobre

um disco de folha com o auxílio de um bastão de vidro. Após secar em temperatura ambiente, cada disco foi colocado em uma placa de Petri (10cm) contendo um disco de papel de filtro umedecido com água destilada. Cinco fêmeas adultas do ácaro rajado foram transferidas para cada disco de folha e as placas fechadas. Com o intuito de observar possível ação dos componentes voláteis dos óleos testados, esse procedimento foi repetido com as placas de Petri abertas. A mortalidade foi determinada após 24h de exposição e a deterrência de oviposição foi avaliada através da contagem do número de ovos, com os dados transformados em $\sqrt{x+0,5}$. Os ácaros foram considerados mortos quando incapazes de caminhar uma distância superior ao comprimento do seu corpo após um leve toque com a extremidade de um pincel de cerdas finas. Os discos controle foram tratados apenas com água contendo o dispersante. Todos os tratamentos foram repetidos cinco vezes. Para as análises estatísticas, os dados obtidos para mortalidade, assim como os dados de redução da quantidade de ovos, após atenderem aos testes de normalidade e homogeneidade de variância foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade através do programa estatístico SAS (SAS Institute 2002). Os dados obtidos para a mortalidade com as placas fechadas foram ainda submetidos à análise de Probit e as concentrações que matam 50% da população de ácaro (CL_{50s}) foram estimadas utilizando-se o programa POLO - PC (LEORA, 1987). A metodologia de Robertson & Preisler (1992) foi utilizada para o cálculo das razões de toxicidade, com seus respectivos intervalos de confiança a 95%, sendo considerada significativa quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

2.4.4. Bioensaio de Repelência

A atividade repelente dos óleos essenciais foi realizada de acordo com metodologia adaptada de Nerio *et al.* (2009). As arenas foram confeccionadas a partir de placas de Petri (9cm) com um disco de papel de filtro umedecido com água destilada. Discos de folhas de feijão-de-porco de 5cm foram usados como suporte dos experimentos e fonte de alimento. Os discos de folhas foram inicialmente divididos em áreas iguais de 9,8cm² com um espaço neutro de 0,3cm entre elas. Uma das áreas foi imersa na solução controle, contendo apenas etanol, e a outra área foi imersa na solução preparada a partir do óleo essencial diluído em etanol. Os discos de folhas permaneceram sobre papel de filtro durante um período de 5 min ao ar livre para a secagem e, em seguida, cada disco foi acondicionado em uma arena. Dez fêmeas adultas do ácaro rajado foram liberadas no espaço neutro de cada disco de folha e as placas de Petri foram fechadas. Quinze repetições foram realizadas, totalizando 150 ácaros por tratamento. O eugenol foi utilizado como controle positivo. As concentrações das amostras e do eugenol utilizadas variaram de 1×10^{-4} a 5,09 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. As avaliações foram realizadas após um período de exposição de 2h, através da contagem do número de ácaros no controle e no tratamento. Os valores das concentrações que repeliram 50% da população de ácaros (CR_{50}) foram estimados através da análise de Probit calculadas pelo programa estatístico POLO - PC (LEORA, 1987). As razões de toxicidade foram calculadas de acordo com Robertson & Preisler (1992), com seus respectivos intervalos de confiança a 95%, sendo considerada significativa quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

2.4.5. Bioensaio de Dupla Escolha

A metodologia de dupla escolha foi a mesma utilizada por Miresmailli & Isman (2006). Para a realização dos bioensaios, arenas foram confeccionadas a partir de placas de Petri de 8 cm contendo espuma de polietileno umedecida com água destilada e um disco de papel de filtro. Dois discos de folha de feijão-de-porco (2,5cm) foram colocados na arena sobre o disco de papel de filtro. Os discos de folha foram unidos através de uma lamínula quadrada de 18mm. Em um disco de folha foi espalhada uma alíquota de 20 μ L da solução contendo o óleo essencial ou os constituintes majoritários diluído em água destilada utilizando Tween 20 (0,1%). O outro disco foi tratado apenas com água destilada e dispersante, utilizado como controle. A concentração usada nos experimentos foi de 1%. Trinta fêmeas adultas do ácaro rajado foram liberadas no centro de cada placa de Petri, sobre a lamínula, entre os dois discos de folha. Após 1, 12, 24 e 48h, foram realizadas as análises através da contagem do número de ácaros e ovos nos discos tratados e não tratados. Todos os tratamentos foram repetidos 10 vezes. Os dados obtidos para repelência e preferência de oviposição, após atenderem aos testes de normalidade e homogeneidade de variância, foram submetidos ao teste F.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido ao baixo rendimento obtido para o óleo essencial das espécies de *C. pulegioides*, *C. heliotropiifolius*, flor e caule de *E. uvalha* e flor de *C. sellowii* os testes acaricidas não foram realizados, assim como, para as espécies *C. jacobinensis*, *C. rhamnifolius*, *C. micans* e *C. muscicapa* apenas o experimento de fumigação foi realizado.

3.1. Atividade Acaricida contra *Tetranychus urticae* e composição do óleo essencial de quatro espécies de *Croton* do bioma Caatinga do Nordeste Brasileiro¹

Componentes voláteis de *C. jacobinensis*, *C. rhamnifolius* e *C. micans* foram objeto de estudos anteriores: Craveiro *et al.* (1981) relatou componentes voláteis do óleo das folhas de *C. jacobinensis*, *C. rhamnifolius* e *C. micans* em amostras coletadas em municípios do Nordeste do Brasil: Cocal no Piauí, Pedra Branca no Ceará e em Jacobina Estado da Bahia, respectivamente. Além disso, Compagnone *et al.* (2010) relatam a composição química das folhas e flores de *C. micans* coletadas em Santa Elena de Uairen, Estado Bolívar, Venezuela.

Hidrodestilação de diferentes partes das espécies de *Croton*, folha e caule, demonstraram coloração amarelada e óleos de cheiro agradável. Os rendimentos dos óleos são mostrados na Tabela 1 e variou de $1,1 \pm 0,0$ - $0,6 \pm 0,0\%$ (m/m) para folhas e de $0,7 \pm 0,0$ - $0,1 \pm 0,0\%$ para os caules. Rendimentos

¹Trabalho publicado na revista *Natural Products communications*. Neves I. A. and da Camara, C. A. G.. Acaricidal Activity against *Tetranychus urticae* and Essential Oil Composition of Four *Croton* Species from Caatinga Biome in Northeastern Brazil. *Natural Products Communications*, 6, 6, 893-899(ANEXO I).

observados para o óleo das folhas e do caule da mesma espécie não diferiram significativamente, exceto para *C. rhamnifolius*. Os componentes voláteis identificados estes óleos são indicados na Tabela 1, na ordem de eluição na coluna DB-5.

Cento e cinco substâncias foram identificadas, sendo responsável por 94,0/93,0%; 95,5/94,5%; 93,8/93,1% e 99,8/99,9% da composição química das folhas/caule dos óleos de *C. jacobinensis*; *C. rhamnifolius*; *C. muscicapa* e *C. micans*, respectivamente. De acordo com a Tabela 1, com exceção das folhas e do caule do óleo de *C. micans* que os compostos benzênicos não foram detectados, todos os óleos de *Croton* mostrou ser constituídos por monoterpenos, sesquiterpenos e compostos benzênicos com uma composição muito diversificada.

Um total de 32 e 37 constituintes foram identificados nas folhas e caule do óleo de *C. jacobinensis*, respectivamente. Dos quais, 20 compostos foram encontrados concomitantemente em ambos os óleos. Estes óleos foram caracterizados por maiores percentagens de sesquiterpenos (77,3% nas folhas e 74,2% no caule), em particular (*Z*)- α -Atlantona (24,3%); (*E*)-diidro-Apofarnesal (10,5%), β -Oplopenona (10,2%) e (2*Z*, 6*E*)-farnesol (5,6%) identificados nas folhas como principais constituintes (Figura 2). Trans Isolongifolanona (22,8%) e (2*Z*, 6*E*)-farnesol (12,1%), ausentes no óleo de folhas, mas foi encontrado como principal componente no óleo do caule (Figura 2). (*Z*)- α -Atlantona e (*E*)-diidro-Apofarnesal também foram identificados no óleo do caule com percentual inferior a 3%. Representando compostos benzênicos, *p*-cimeno e 1-Fenil-3-pentanol foram encontrados em um baixo percentual nos óleos de folha e caule de *C. jacobinensis*, respectivamente.

Vinte e seis compostos, constituindo ca. 95,5% foram identificados para o óleo essencial das folhas de *C. rhamnifolius*, respectivamente. Dezenove sesquiterpenos (88,7%), sete monoterpenos (2,6%), e três compostos benzênicos (3,2%) foram identificados no óleo das folhas. Entre os sesquiterpenos α -epóxido Cedreno (23,3%); óxido de cariofileno (21,9%), β -Cariofileno (7,1%); Caratol (5,7%) e Viridiflorol (5,0%) foram os principais constituintes encontrados no óleo das folhas (Figura 2). Óxido de cariofileno foram identificados no óleo das folhas de *C. sellowii*, um semi-arbustos dispersos na costa de Pernambuco (DIAS *et al*, 2006).

No óleo do caule de *C. rhamnifolius*, 33 compostos, correspondendo a ca. 94,9% do óleo foram identificados. Ao contrário do óleo da folha, o óleo é dominado por monoterpenos (66,6%) e os principais constituintes foram cânfora (16,6%) e Tricileno (12,8%) (Figura 2) seguido por acetato de isobornil (5,8%) como monoterpenos em menor percentual. Entre os principais constituintes identificados no óleo das folhas de *C. rhamnifolius*, apenas os sesquiterpenos minoritários, β -cariofileno e Caratol foram encontrados em porcentagens inferiores a 2% no caule. Por outro lado, o principal constituinte do óleo da folha, Triciclono, no óleo do caule, estava presente em 0,1% apenas. Como representante dos compostos benzênicos, apenas *o*-cimeno foi encontrada em quantidade similar em ambos os óleos (folhas e caule) de *C. rhaminifolius*.

Dezesseis e vinte e quatro compostos, constituindo ca. 93,8% e 93,1% foram identificados na folha e caule de *C. muscicapa*, respectivamente. Dos 16 compostos identificados no óleo de folhas, apenas o sesquiterpeno Rosifoliol não foi detectado no óleo do caule. Estes óleos apresentaram composição

semelhante e foram dominados por único compostos benzênicos, Foeniculina, pertencente ao grupo dos fenilpropanóides (50,6% em folhas e 72,7% no caule), seguido de sesquiterpenos (43,1% em folhas e 18,8% no caule) e menores quantidades de monoterpenos (0,1% na folha e 1,6% no caule). Maior percentual de sesquiterpenos no óleo das folhas foram encontrados para o biciclogermacreno (14,6%), seguido por β -cariofileno (7,0%) e germacreno D (4,9%), enquanto os principais constituintes dos óleo de caule foram epóxido de α -Cedrene (5,9%) e globulol (2,7%). Viridiflorol (2,6%), β -cariofileno (2,0%); biciclogermacreno (1,7%) e germacreno D (0,6%) representaram sesquiterpenos minoritários. (Figura 2)

Quanto à composição química da folha e caule de óleo de *C. micans*, 21 e 34 compostos foram identificados, representando 99,8% e 99,5% do total de óleo, respectivamente. O óleo do caule demonstrou uma maior variedade de compostos de que os óleos das folhas. Comparando ambos os óleos, diferem qualitativamente e quantitativamente, mesmo os dois óleos sendo dominados por sesquiterpenos (94,8% nas folhas e 88,7% no caule). O principal constituinte do óleo das folhas foram α -bulneseno (32,9%), seguido por germacreno B (21,4%) e β -Cariofileno (12,3%), enquanto que no óleo do caule, guaiol (17,9%), β -elemeno (13,0%) e Longipinanol (11,9%) foram os principais componentes (Figura 2). Alguns componentes comuns aos óleos das folhas e do caule foram: β -pineno, mirceno, álcool Santolina e cânfora na fração monoterpênica e entre os principais sesquiterpenos encontrados no óleo de caule foram guaiol, β -elemeno e Valerianol. Outros sesquiterpenos em percentuais menores também foram encontrados em ambos os óleos: β -Cariofileno, α -humuleno, elemol, espatulenol, 10-epi- γ -eudesmol e Bulnesol.

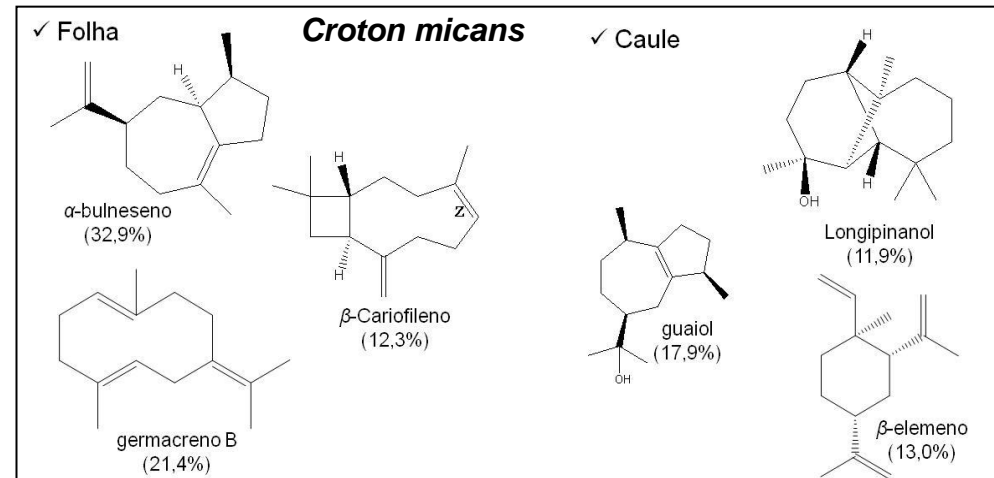
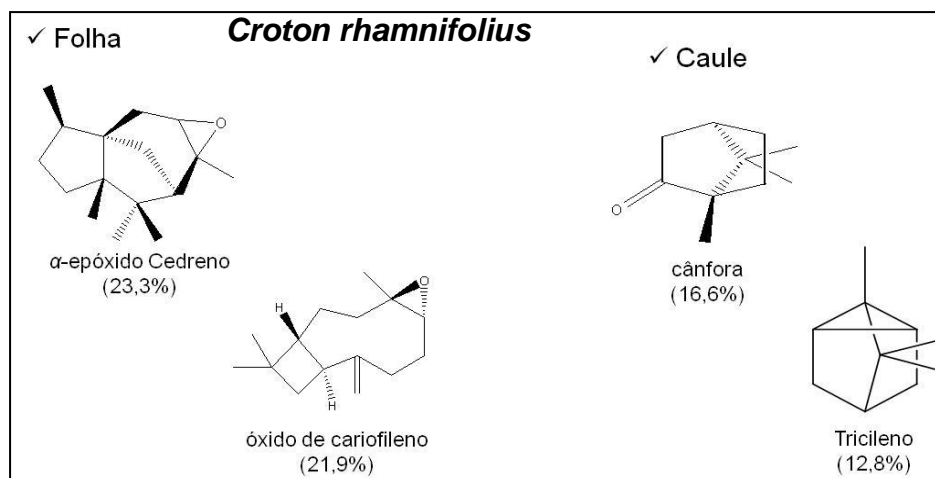
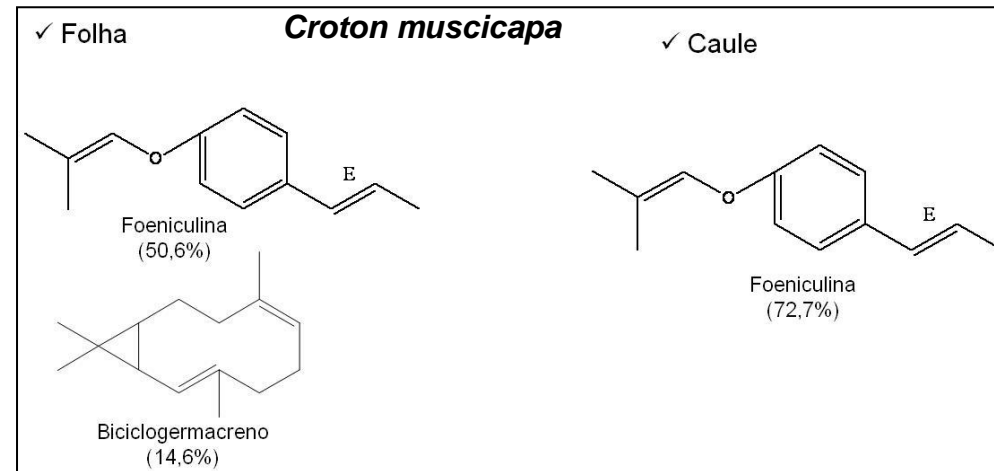
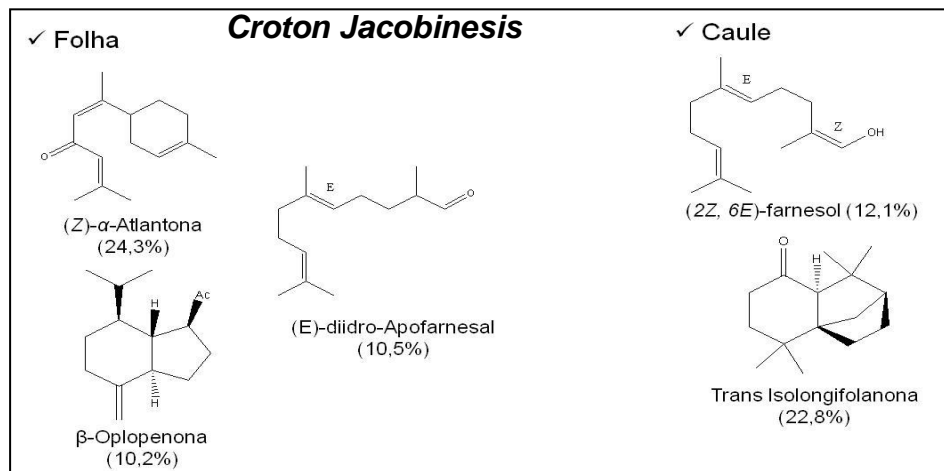


FIGURA 2: Componentes majoritários das folhas e caule de quatro Croton.

Tabela 1: Rendimento percentual dos óleos essenciais e dos constituintes químicos identificados das folhas e caule de quatro *Croton*

Compostos ^a	I.R. ^b	I.R. ^c	JAC		RHA		MUS		MIC	
			Folha	Caule	Folha	Caule	Folha	Caule	Folha	Caule
%±DP			1,11±0,01	0,63±0,04	0,64±0,02	0,63±0,01	0,61±0,02	0,05±0,03	0,94±0,06	0,65±0,05
Santolina trieno	903	906	-	-	-	-	-	-	0,9	-
Triciclono	920	921	3,3	0,2	0,1	12,8	-	-	-	0,1
α-Pineno	929	932	1,4	10,4	0,7	-	-	-	-	-
Canfeno	941	946	-	-	0,1	3,3	-	-	-	0,1
β-Pineno	972	974	0,2	2,5	0,1	-	-	-	0,8	0,2
Mirceno	983	988	0,2	0,5	0,7	2,0	-	-	0,6	0,2
δ - 2 Careno	999	1001	-	0,7	-	-	-	-	-	-
Iso-Silvestreno	1004	1007	-	-	-	0,6	-	-	-	-
p-Cimeno	1017	1020	0,5	-	-	-	-	-	-	-

<i>o</i> -Cymeno	1019	1022	-	-	2,2	2,5	-	-	-	-
Silvestreno	1021	1025	10,2	1,4	-	-	-	0,4	-	-
Limoneno	1023	1024	-	-	0,4	4,6	-	-	-	-
1,8-Cineol	1025	1026	-	-	0,4	3,1	-	-	-	-
Santolina Alcool	1031	1034	-	-	-	-	-	-	1,9	0,4
(<i>E</i>)- β -Ocimeno	1040	1044	-	-	-	3,3	-	-	-	0,1
γ -Terpineno	1050	1054	0,2	-	-	6,1	-	-	-	0,2
<i>p</i> -Menta-2,4(8)-dieno	1080	1085	-	-	-	0,9	-	-	-	-
Terpinoleno	1082	1086	0,5	-	-	-	-	-	-	0,2
Linalool	1091	1095	-	-	-	-	-	-	0,8	2,3
Canfor	1138	1141	-	1,2	-	16,6	-	-	-	1,1
Isoborneol	1151	1155	-	-	-	3,9	-	-	-	-
<i>Trans</i> - β -Diidro terpineol	1154	1158	-	-	-	1,9	-	-	-	-
Borneol	1161	1165	-	0,4	-	1,5	-	0,3	-	2,5
Terpinen-4-ol	1171	1174	-	0,5	-	-	-	0,2	-	1,1

α -Terpineol	1181	1186	0,2	0,5	-	-	-	0,2	-	0,5
Acetato de Isobornila	1184	1283	-	-	-	5,8	-	-	-	-
Acetate Bornila	1287	1287	-	-	-	-	0,1	0,3	-	0,1
δ -Elemeno	1340	1335	-	-	-	-	0,1	0,2	0,3	0,3
1-fenil pentan-3-ona	1332	1336	0,1	0,5	-	-	-	-	-	-
α -Copaeno	1375	1374	-	3,9	0,3	2,2	0,3	0,1	-	2,3
β -Elemeno	1392	1389	0,9	0,4	-	-	0,9	0,1	3,8	13,8
Longifoleno	1405	1407	-	-	-	0,8	-	-	-	-
(Z)- Cariofileno	1407	1408	-	-	-	2,9	-	-	-	-
α -Gurjuneno	1408	1409	0,8	0,3	-	-	-	-	-	-
1,7-di-epi- β -Cedreno	1413	1410	0,4	1,1	-	-	-	-	-	-
(E) - β -Damascono	1410	1413	-	-	-	-	-	-	-	1,4
(E) - Cariofileno	1420	1417	3,5	6,3	7,3	0,6	7,0	2,0	12,3	0,3
γ -Elemeno	1439	1434	-	-	-	-	-	-	1,8	-
Aromadendreno	1444	1439	-	-	-	-	1,0	0,1	-	3,2

α -Humuleno	1454	1452	1,0	1,9	2,0	0,2	1,2	0,4	1,8	0,5
β -Santaleno	1460	1457	-	0,5	-	-	-	-	-	-
Allo-Aromadendreno	1462	1458	-	-	1,5	0,2	-	-	-	-
9-epi-(<i>E</i>)-Cariofileno	1470	1467	-	-	-	-	1,0	0,1	-	-
γ -Curcumeno	1482	1481	-	-	-	2,6	-	-	-	-
Germacreno D	1486	1484	-	-	-	-	4,9	0,6	0,6	-
β - Selineno	1490	1489	-	-	-	-	-	-	-	0,8
Valenceno	1492	1496	0,4	0,9	-	-	-	-	-	-
α -Selineno	1494	1498	-	-	-	0,7	-	-	-	-
Biciclogermacreno	1498	1500	2,3	-	-	-	14,6	1,7	-	3,5
β -Himachaleno	1502	1500	-	-	-	-	-	-	-	0,5
Cupareno	1506	1504	-	-	0,9	0,2	-	-	-	-
β -Bisaboleno	1504	1505	-	-	-	-	-	0,5	-	-
α -Bulneseno	1508	1509	-	-	-	1,3	-	-	32,9	-
β -Curcumeno	1511	1514	-	-	-	2,7	-	-	-	-

Cubebol	1513	1514	-	-	-	1,6	-	-	-	-
(Z)- γ -Bisaboleno	1518	1514	-	-	-	-	-	-	-	0,6
(E)-diidro- Apofarnesal	1522	1520	10,5	1,5	-	-	-	-	-	-
δ -Cadineno	1528	1522	-	3,4	2,5	2,4	1,3	0,6	-	-
β -Sesquifelandreno	1530	1524	-	0,8	-	-	-	-	-	-
(Z)-Nerolidol	1535	1531	0,1	-	-	0,6	-	-	-	-
<i>Trans</i> -Cadina-1,4-dieno	1538	1533	0,4	-	-	-	-	-	-	1,3
α -Cadineno	1539	1537	0,3	1,8	-	-	-	-	-	0,8
8,14-Cedranóxido	1543	1541	-	-	-	1,6	-	-	-	-
Elemol	1548	1548	-	-	-	-	-	-	2,1	4,2
β -Vetivenene	1555	1554	-	-	-	0,7	-	-	-	-
Germacreno B	1563	1559	-	-	-	-	-	0,3	21,4	-
Longipinanol	1568	1567	-	-	-	-	-	-	-	11,9
Álcool Cariofilenil	1575	1570	1,5	-	-	-	-	-	-	-
Epoxido de α -Cedreno	1576	1574	-	-	-	-	2,6	5,9	-	-

Espatulenol	1583	1577	1,1	1,2	23,5	-	-	-	2,4	2,5
Óxido de cariofileno	1589	1582	0,7	2,0	21,9	-	-	-	-	-
Globulol	1593	1590	-	-	-	-	3,1	2,7	1,4	-
Viridiflorol	1594	1592	-	-	5,0	-	-	2,6	-	-
Caratol	1596	1594	1,0	2,4	5,9	1,0	-	-	-	-
Cubeban -11- ol	1600	1595	-	-	-	-	3,5	-	-	-
Longiborneol	1601	1599	-	0,9	-	-	-	-	-	-
Guaiol	1603	1600	-	-	-	-	-	0,5	4,8	17,9
Rosifoliol	1605	1600	-	-	-	-	1,6	-	-	-
Ledol	1607	1602	1,9	1,3	1,4	-	-	-	-	-
Khusimona	1607	1604	-	-	-	3,7	-	-	-	-
β -Oplopenona	1610	1607	10,2	-	-	-	-	-	-	-
Epóxido de Humuleno II	1613	1608	-	-	4,3	-	-	-	-	-
10-epi- γ -Eudesmol	1623	1622	-	-	-	-	-	0,2	3,4	5,8
<i>Trans</i> -Isolongifolanona	1626	1625	-	22,8	-	-	-	-	-	-

β -Acorenol	1638	1636	-	0,6	-	-	-	-	-	-
Epi- α -Muurolol	1642	1640	-	-	2,8	-	-	-	-	-
3-iso-Tujopsanona	1640	1641	1,1	2,5	-	-	-	-	-	-
α -Muurolol	1646	1644	-	-	2,0	-	-	-	-	-
α -Eudesmol	1650	1652	-	0,7	-	-	-	-	-	-
α -Cadinol	1652	1652	-	1,1	3,6	-	-	0,4	-	-
3-Tujopsanona	1653	1653	-	-	0,4	-	-	-	-	-
Valerianol	1655	1656	-	-	-	-	-	-	1,9	13,0
Diidro-Eudesmol	1660	1661	-	0,6	-	-	-	-	-	-
7-epi- γ -Eudesmol	1664	1662	-	-	-	-	-	-	2,2	-
14-hidroxi-(Z)-Cariofileno	1666	1666	-	-	3,3	-	-	-	-	-
Bulnesol	1676	1670	-	-	-	-	-	-	1,7	5,8
Foeniculin	1679	1677	-	-	-	-	50,6	72,7	-	-
Óxido de α -Bisaboleno A	1680	1684	-	-	1,1	-	-	-	-	-
(Z)- γ -Atlantona	1693	1694	-	0,7	-	-	-	-	-	-

(<i>Z</i>)- α -Atlantona	1712	1717	24,3	2,5	-	-	-	-	-	-
(2 <i>Z</i> , 6 <i>E</i>)-Farnesol	1720	1722	3,3	-	-	-	-	-	-	-
(<i>E,E</i>)-Farnesol	1722	1722	-	12,1	-	-	-	-	-	-
Acetato de Guaiol	1725	1725	4,6	-	-	-	-	-	-	-
(<i>E,Z</i>)-Farnesol	1740	1742	5,6	-	-	-	-	-	-	-
(<i>E</i>)- α -Atlantona	1775	1777	1,3	-	-	-	-	-	-	-
Monoterpenos			16,2	18,3	2,6	66,4	0,1	1,6	5,0	10,8
Sesquiterpenos			77,3	74,2	81,7	26,0	43,1	18,8	94,8	88,7
Benzenóides			0,5	0,5	3,2	2,5	50,6	72,7	-	-
Total			94,0	93,0	95,5	94,9	93,8	93,1	99,8	99,5

^aCompostos listados de acordo com a eluição em coluna não polar DB-5, ^bÍndices de retenção calculados baseados nos tempos de retenção em comparação com a uma série de *n*-alcanos em coluna de capilaridade de 30m DB-5 ^cÍndices de retenção da literatura. JAC = *Croton jacobinensis*; RHA = *Croton rhamnifolius*; MUS = *Croton muscicapa*; MIC = *Croton micans*.

Na nossa investigação, perfis químicos diferentes foram observados para o óleo de folhas *C. jacobinensis* e *C. rhamnifolius* quando comparados aos dados reportados por Craveiro *et al* (1981). Uma correlação inversa foi observada para a fração sesquiterpênica nos óleos de *C. rhamnifolius* coletados em Pedra-Branca, Estado do Ceará, que apresentou uma quantidade muito maior de sesquiterpenos em comparação com a nossa amostra, coletada em Pernambuco.

Alternativamente, o perfil químico de *C. micans* encontrados no presente estudo foi muito semelhante ao perfil relatados para amostras coletadas em Jacobina, Bahia (CRAVEIRO *et al*, 1981). Ambos os óleos foram dominados por sesquiterpenos.

Recentemente, a composição química de folhas de *C. micans* coletados na Venezuela demonstrou que nossos resultados diferem daqueles obtidos pelos investigadores daquele país, que relatou acetato de fenchila(25,3%), α -cariofileno (20,7%), α -Selineno (12,8%) e β -Bourbeno (9,3%) como principais constituintes (COMPAGNONE *et al*, 2010).

De acordo com Bracho e Crowley (1966), a co-ocorrência de α e β -Pineno pode ser uma característica do gênero *Croton*. Nossos resultados mostram que, em folhas de óleo de *C. rhamnifolius* ($0,7 \pm 0,0\%$ e $0,1\% \pm 0,1$) e no óleo das folhas e caules de *C. jacobinensis* há co-ocorrência destes monoterpenos em baixo percentual ($1,4 \pm 0,2\%$ e $10,4 \pm 0,0\%$ no óleo das folhas $0,2\% \pm 0,1$ e caule $2,5 \pm 0,3\%$). Nos óleos *C. muscicapa*, ambos os monoterpenos estavam ausentes e apenas β -Pineno foi encontrado nos óleos das folhas e caules de óleos *C. micans* ($0,8 \pm 0,2\%$ e $0,2\% \pm 0,0$). Contudo, os

dados de outras espécies deste gênero, β -cariofileno parece ser um componente importante igualmente freqüentes (RADULOVIC *et al*, 2006). Os resultados obtidos neste estudo mostraram que apenas o composto identificado em todos os óleos de *Croton* foi β -cariofileno, em percentagens que variam entre $0,3 \pm 0,2$ para $12 \pm 0,4\%$ (Tabela 2).

Estes resultados mostram que a variabilidade na composição dos óleos essenciais discutidas depende essencialmente sobre a origem das amostras, a influência da posição geográfica e climas.

Excelente ação de deterrência de oviposição foi observada nos óleos essenciais de *Croton*. A capacidade de óleos essenciais para reduzir a fecundidade de *T. urticae* já foi relatada (PONTES *et al.*, 2007a,b,c). A partir dos dados obtidos, os óleos de *Croton* testados reduziram significativamente o número de ovos de *T. urticae* em comparação com o controle.

Para os óleos de caule das espécies de *Croton*, exceto o óleo das folhas de *C. muscicapa*, a quantidade de óleo usado para reduzir a oviposição foi menor do que as concentrações utilizadas para óleos das folhas (Figura 3).

A concentração mínima em μL^{-1} de ar dos óleos para causar uma redução significativa dos ovos foram: *C. jacobinensis* (16 para as folha e $1,6 \times 10^{-2}$ para o caule); *C. rhamnifolius* (0,6 para as folhas e $3,2 \times 10^{-3}$ para o caule); *C. muscicapa* ($3,2 \times 10^{-3}$ para as folhas e 8×10^{-2} para o caule) e *C. micans* (0,6 para as folhas e 8×10^{-2} para o caule).

Entre óleo dos *Croton*, o caule de *C. rhamnifolius* foi o mais deterrente (55,2% de redução dos ovos do ácaro em concentração mínima de $3,2 \times 10^{-3} \mu\text{L}^{-1}$ do ar), seguido pelo *C. Jacobinensis* (52,9% de redução a $1,6 \times 10^{-2} \mu\text{L}^{-1}$

de ar), *C. micans* (73,8% de redução de $8,0 \times 10^{-2} \mu\text{L}^{-1}$ de ar) e *C. muscicapa* (61,7% de redução de $8,0 \times 10^{-2} \mu\text{L}^{-1}$ de ar). A concentração mínima necessária para o controle positivo (eugenol) para reduzir mais de 50% dos ovos postos pelos ácaros foi igual à concentração utilizada para o óleo de caule de *C. jacobinensis* e cinco vezes maior do que o utilizado para o óleo de caule de *C. rhamnifolius*.

Embora os experimentos tenham provocado uma redução da quantidade de ovos observada para *T. urticae*, quando expostos a vapores dos óleos de *Croton* esteja provavelmente relacionada à mortalidade e a deterrência, uma ação deterrente desses óleos é incontestável ao se observar o comportamento de redução de ovos dos ácaros expostos aos óleos em concentração menor e compará-los com o Controle. Ou seja, o número de ovos colocados pelos ácaros nas menores concentrações difere significativamente do número de ovos postos no Controle (Figura 3).

Os dados observados de fecundidade nestes experimentos sugerem que uma exposição dos ácaros a esses óleos não os impedem de ovipositar, mas por deterrência, causam uma drástica redução na fecundidade, especialmente quando submetidos, por 24 horas, na menor concentração do óleo testado do caule de *C. rhamnifolius* ($3,2 \times 10^{-3} \mu\text{L}^{-1}$ de ar) e *C. jacobinensis* ($1,6 \times 10^{-2} \mu\text{L}^{-1}$ de ar).

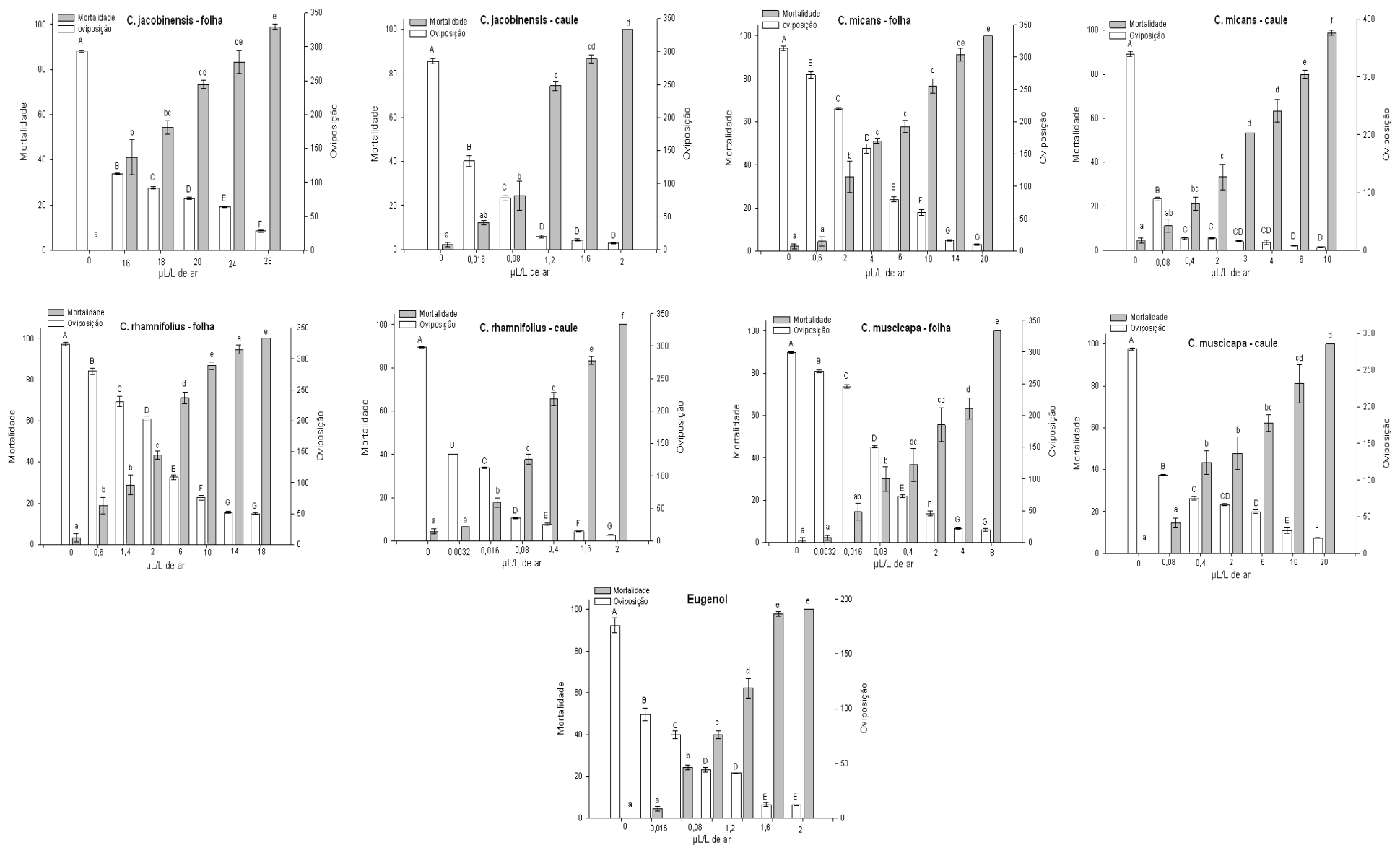


Figura 3: Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos de adultas fêmeas de *Tetranychus urticae* em diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Croton*. Gráfico de barras por espécies e parte da planta, barras seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si. ($p = 0.05$, Tukey test)

Sobre a toxicidade das amostras de óleo de *Croton* testados, os óleos dos caules de *C. jacobinensis* e *C. rhamnifolius* foram os acaricidas mais potentes. Ambos os óleos induziram 100% de mortalidade de *T. urticae* após 24 h em 2 μL^{-1} de ar, seguido pela folha de *C. muscicapa* (100% em 8 μL^{-1} de ar) e o caule de *C. micans* (99% em 10 μL^{-1} de ar). A menor atividade foi observada para o óleo de folhas de *C. jacobinensis* (99% de mortalidade em 28 μL^{-1} de ar) seguido pelo caule de *C. muscicapa* e folhas de *C. micans* (100% em 20 μL^{-1} de ar) e folha de *C. rhamnifolius* (100% em 18 μL^{-1} de ar) (Figura 3).

As respostas de concentração-mortalidade de *T. urticae* aos óleos de *Croton* e eugenol como controle positivo foram comparados em termos de diferenças da CL_{50} . Como a mortalidade do controle foi inferior a 10%, os resultados não precisam de uma correção antes que pudessem ser submetidos à análise probit, para a estimativa da concentração responsável por matar 50% das populações de ácaros (CL_{50}). A CL_{50} dos óleos essenciais extraídos de diferentes partes de plantas de espécies de *Croton* contra *T. urticae* são apresentados na Tabela 2. O acaricida convencional, fosfina, com 66,7% da dose recomendada, promoveu 100% de mortalidade dos ácaros adultos. Comparando-se a toxicidade entre os óleos de *Croton*, os óleos dos caules de *C. jacobinensis* e *C. rhamnifolius* foram os mais tóxicos, mas o controle natural positivo, o eugenol foi cerca de 75 e 50 vezes mais ativo para os ácaros, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2: Ação fumigante dos óleos de quatro *Croton* e eugenol contra fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Espécie	N	Equação (I.C. 95%)	CL ₅₀ (μL/L ar) (I.C. 95%)	χ ²	RT	
JAC	Folha	450	Y=-5,7+8,6logx (7,6-9,6)	17,5 (15,20-19,00)a	4,8	2,03x10 ⁻⁴
	Caule	360	Y=5,7+1,2logx (1,2-1,3)	0,30 (0,10-0,70)b	3,3	1,29x10 ⁻²
RHA	Folha	540	Y=4,2+1,9logx (1,7-2,1)	2,70 (2,20-3,20)c	3,9	1,34x10 ⁻³
	Caule	540	Y=5,7+1,0logx (0,9-1,1)	0,20 (0,12-0,25)b	0,9	1,97x10 ⁻²
MUS	Folha	540	Y=4,9+0,6logx (0,5-0,7)	1,10 (0,50-2,60)bc	4,4	3,31x10 ⁻³
	Caule	360	Y=4,8+0,8logx (0,7-0,9)	1,70 (0,40-4,70)bc	4,9	3,57x10 ⁻³
MIC	Folha	540	Y=3,8+2,0logx (1,8-2,0)	4,02 (2,96-5,20)bc	6,0	8,81x10 ⁻⁴
	Caule	360	Y=3,4+3,3logx (3,0-3,6)	2,97 (1,49-4,30)bc	3,8	1,19x10 ⁻²
EU		450	Y=7.16 +0.88logx (0.80-0.96)	4,0x10 ⁻³ (0.002-0.009)d	3.9	-

JAC=*Croton jacobinensis*; RHA=*Croton rhamnifolius*; MUS=*Croton muscicapa*; MIC=*Croton micans*; EU = eugenol; n = número de ácaros/dose; I.C.= Intervalo de confiança; RT = razão de toxicidade; χ² chi-quadrado; Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ($p = 0.05$, teste Tukey).

Uma comparação entre a composição química de óleos de *C. jacobinensis* e *C. rhamnifolius* revelou que a composição dos óleos do caule diferem um do outro. O óleo do caule de *C. jacobinensis* foi dominada por

hidrocarbonetos sesquiterpênica, enquanto o óleo derivado do *C. rhamnifolius* foi dominada por monoterpenos. Estes resultados sugerem que estes óleos são constituídos por uma grande variedade de compostos, que, individualmente ou em conjunto, devido à ação de sinergismo pode promover alterações substanciais na biologia de *T. urticae*.

3.2. Constituintes voláteis de duas espécies de *Croton* do bioma Caatinga de Pernambuco – Brasil²

A hidrodestilação de diferentes partes do *C. pulegioides* e *C. rhamnifolius* var. *heliotropioliolius* (folha e caule) rendeu óleos de coloração amarelada, com cheiro agradável. O maior rendimento (calculado com base no peso seco) foi obtido a partir do *C. pulegioides* (folha = $0,64 \pm 0,06\%$ e caule = $0,75 \pm 0,03\%$), que foi significativamente diferente do *C. rhamnifolius* var. *heliotropioliolius* (folha = $0,12 \pm 0,01\%$ e caule = $0,01 \pm 0,02\%$). Os constituintes voláteis identificados nestes óleos são listadas na Tabela 3, na ordem de eluição na coluna DB-5. Embora pertencentes ao mesmo gênero, a composição do óleo das duas espécies de *Croton* era muito diferente.

² Trabalho submetido a revista Record of Natural Product em 17 de abril de 2011 (ANEXO II).

Tabela 3: Rendimento percentual da composição química do *Croton pulegioides* e *Croton rhamnifolius* var. *heliotropiifolius*

Composto	RI. ^a	RI. ^b	<i>Croton rhamnifolius</i> var				Método de identificação
			<i>Croton pulegioides</i>		<i>heliotropiifolius</i>		
			Folha	Caule	Folha	Caule	
Triciclano	929	926	0,10±0,00	-	-	-	IR, EM
α -Pino	936	939	0,41±0,02	-	-	-	IR, EM, CI
α -Feneno	949	951	0,17±0,07	-	-	-	IR, EM
Sabineno	975	976	0,20±0,03	-	-	-	IR, EM
β -Pino	978	980	0,15±0,05	-	-	-	IR, EM, CI
Mirceno	994	991	1,82±0,12	-	-	-	IR, EM
α -Felandreno	1006	1005	1,49±0,14	-	-	-	IR, EM
α -Terpino	1019	1018	0,33±0,00	-	-	-	IR, EM, CI
<i>o</i> -Cimeno	1012	1022	-	-	1,23±0,02	2,10±0,12	IR, EM
<i>p</i> -Cimeno	1030	1026	14,40±0,01	-	-	-	IR, EM, CI
1,8-Cineol	1036	1033	15,56±0,23	-	-	-	IR, EM, CI

γ -Terpineno	1062	1062	0,75 \pm 0,36	-	-	-	IR, EM
Linalool	1110	1098	3,67 \pm 0,15	0,73 \pm 0,01	-	-	IR, EM
Canfor	1153	1143	13,28 \pm 0,12	1,13 \pm 0,33	-	-	IR, EM
Isoborneol	1164	1156	1,09 \pm 0,65	-	0,21 \pm 0,01	3,34 \pm 0,21	IR, EM
Terpin-4-ol	1185	1177	3,24 \pm 0,45	0,51 \pm 0,02	-	-	IR, EM
α -Terpineol	1200	1189	5,86 \pm 0,88	1,58 \pm 0,01	-	-	IR, EM, CI
Acetato de Linalool	1260	1257	1,50 \pm 0,11	-	-	-	IR, EM
Acetato de Bornil	1285	1285	-	-	0,31 \pm 0,04	1,91 \pm 0,01	IR, EM
Isodieno	1382	1373	-	0,74 \pm 0,01	-	-	IR, EM
α -Copaeno	1391	1376	-	1,58 \pm 0,08	-	-	IR, EM
β -Elemeno	1396	1391	-	1,44 \pm 0,06	6,81 \pm 0,18	17,28 \pm 0,06	IR, EM
Cipereno	1405	1398	-	-	0,52 \pm 0,02	1,36 \pm 0,04	IR, EM
α -Gurjuneno	1416	1409	-	3,27 \pm 0,12	-	-	IR, EM
β -Cariofileno	1426	1418	-	-	20,82 \pm 0,48	8,05 \pm 0,11	IR, EM
β -Gurjuneno	1431	1432	-	3,04 \pm 0,19	-	-	IR, EM

γ -Elemeno	1437	1433	-	2,59±0,07	0,93±0,04	0,59±0,11	IR, EM
Aromadendreno	1438	1439	5,22±0,44	-	-	-	IR, EM
α -neo-Cloveno	1456	1454	-	0,47±0,01	-	-	IR, EM
α -Humuleno	1475	1454	12,98±0,22	-	3,92±0,12	1,87±0,21	IR, EM, CI
α -Patchouleno	1460	1456	-	1,07±0,01	-	-	IR, EM
9-epi-(<i>E</i>)-Cariofileno	1464	1467	-	1,40±0,05	-	-	IR, EM
α -Terpinil isobutirato	1473	1471	-	4,75±0,88	-	-	IR, EM
γ -Gurjuneno	1480	1473	-	2,40±0,59	-	-	IR, EM
<i>cis</i> - β -Guaieno	1490	1490	-	6,48±0,05	-	-	IR, EM
Biciclogermacreno	1502	1494	-	-	6,59±0,08	2,43±0,23	IR, EM
β -Himachaleno	1501	1499	-	3,36±0,07	-	-	IR, EM
<i>trans</i> - β -Guaieno	1507	1500	-	3,44±0,88	-	-	IR, EM
β -Bisaboleno	1511	1509	-	-	0,93±0,06	1,68±0,35	IR, EM
γ -Cadineno	1515	1513	-	1,49±0,95	-	-	IR, EM
Cubebol	1517	1514	-	5,49±0,99	-	-	IR, EM

δ -Cadineno	1526	1524	-	1,92±0,65	-	1,16±0,41	IR, EM
β -Sesquifelandreno	1527	1524	1,05±0,55	0,73±0,22	-	-	IR, EM
(Z)-Nerolidol	1540	1534	-	-	0,70±0,06	0,35±0,04	IR, EM, CI
α -Cadineno	1545	1538	-	1,58±0,33	-	-	IR, EM
α -Calacoreno	1566	1542	-	12,95±0,45	-	-	IR, EM
Elemol	1555	1549	-	-	0,83±0,04	3,01±0,06	IR, EM
Elemicina E	1560	1554	-	-	0,42±0,00	1,01±0,01	IR, EM
Germacreno B	1565	1556	-	-	9,33±0,09	2,83±0,45	IR, EM
β -Calacoreno	1586	1563	-	6,51±0,33	-	-	IR, EM
Espatulanol	1587	1576	-	-	16,37±0,56	1,43±0,08	IR, EM
Óxido de cariofileno	1592	1581	-	-	8,34±0,64	2,06±0,88	IR, EM, CI
diidro- <i>Ar</i> -Turmerona	1604	1591	-	6,08±0,78	-	-	IR, EM
Guaiol	1605	1595	-	-	4,99±0,31	18,38±0,84	IR, EM
<i>cis</i> -Isolongifolanona	1605	1606	3,91±0,54	8,94±0,89	-	-	IR, EM
β -Oplopenona	1609	1606	4,92±0,21	-	-	-	IR, EM

Óxido de β -Himachaleno	1618	1610	-	-	0,99 \pm 0,02	0,58 \pm 0,21	IR, EM
3- <i>iso</i> -Thujopsanona	1636	1637	-	3,68 \pm 0,56	-	-	IR, EM
epi- α -Cadinol	1657	1640	0,34 \pm 0,05	-	-	-	IR, EM
Epi- α -Muurolol	1625	1641	-	-	-	1,53 \pm 0,22	IR, EM
Cubenol	1630	1642	0,37 \pm 0,01	-	-	2,49 \pm 0,45	IR, EM
α -Muurolol	1635	1645	-	-	-	0,91 \pm 0,01	IR, EM
Himachalol	1646	1647	-	-	1,57 \pm 0,31	0,50 \pm 0,00	IR, EM
β -Eudesmol	1660	1649	-	-	1,61 \pm 0,25	2,62 \pm 0,02	IR, EM
Valerianol	1669	1655	3,02 \pm 0,65	-	3,66 \pm 0,51	10,62 \pm 0,84	IR, EM
Bulnesol	1684	1666	1,63 \pm 0,21	-	1,42 \pm 0,61	5,84 \pm 0,07	IR, EM
Foeniculín	1681	1677	-	-	1,99 \pm 0,46	3,26 \pm 0,08	IR, EM
Juniper Camphor	1686	1691	-	6,44 \pm 0,45	-	-	IR, EM
Total				97,47\pm0,13	78,47\pm0,19	94,48\pm0,22	99,21\pm0,15

^aÍndices de retenção calculados baseados nos tempos de retenção em comparação com uma série de *n*-alcanos em coluna de capilaridade de 30m DB-5 ^bÍndices de retenção da literatura. IR = Índice de retenção, EM = Espectro de massas, CI = co-injeção com padrão autêntico.

Todos os óleos dos *Croton* foram compostos de monoterpenos e sesquiterpenos com uma composição muito diversa (Tabela 4). Fenilpropanóides foram encontrados apenas nos óleos do *C. rhamnifolius* var. *heliotropiifolius*, em baixas porcentagens.

Tabela 4: Percentual da composição de terpenóides e fenilpropanóides identificados nos óleos de *Croton*

Grupo químico	CPUL		CHEL	
	Folha	Caule	Folha	Caule
Monoterpeno	35,38±0,20	3,05±0,02	1,80±0,02	2,10±0,00
Monoterpeno oxigenado	28,64±0,14	-	0,52±0,01	5,25±0,18
Sesqueterpeno	19,25±0,17	42,32±0,21	49,33±0,02	37,25±0,22
Sesqueterpeno oxigenado	14,20±0,11	33,1±0,19	40,48±0,13	50,34±0,12
Fenilpropanóide	-	-	2,41±0,09	4,27±0,02
Total identificado	97,47±0,13	78,47±0,19	94,48±0,22	99,21±0,15

CPUL = *C. pulegioides*, CHEL = *C. rhamnifloius* var. *heliotropiifolius*

Cinqüenta e quatro componentes foram identificados no óleo de *C. pulegioides*, representando cerca de 97,47 ± 0,13% e 95,79 ± 0,88% dos óleos de folhas e caule, respectivamente. Entre esses componentes, somente o linalol, cânfora, terpin-4-ol, α-terpineol, β-sesquifelandreno e cis-isolongifolanona são encontrados simultaneamente nos óleos das folhas e caule. Monoterpenoides constituiu 64,02% do óleo da folha, com o componente

mais abundante sendo 1,8-cineol ($15,56 \pm 0,23\%$), seguido pelo p-cimeno ($14,40 \pm 0,01\%$) e cânfora ($13,28 \pm 0,12\%$) (Figura 4). Outros monoterpenonoides que estavam presentes em quantidades apreciáveis foram α -terpineol ($5,86 \pm 0,88\%$), linalol ($3,67 \pm 0,15\%$) e terpin-4-ol ($3,24 \pm 0,45\%$). Os outros componentes deste grupo químico estavam presentes em quantidades inferiores a 1%, exceto o mirceno ($1,82 \pm 0,12\%$), α -feladreno ($1,49 \pm 0,14\%$) e isoborneol ($1,09 \pm 0,65\%$). Sesquiterpenos contitui $33,45 \pm 0,22\%$ deste óleo, com α -humuleno ($12,98 \pm 0,22\%$) e aromadendreno ($5,22 \pm 0,44\%$) os componentes mais abundantes.

Um total de 29 substâncias foram identificadas no óleo do caule de *C. pulegioides*, correspondendo a $95,79 \pm 0,88\%$ do óleo. Ao contrário do óleo das folhas, o óleo do caule foi caracterizado por uma grande quantidade de sesquiterpenos oxigenados ($91,84 \pm 0,01\%$), com os seguintes componentes principais: α -calacoreno ($12,95 \pm 0,45\%$), cis-isolongifolaneno ($8,94 \pm 0,89\%$), β -calacoreno ($6,51 \pm 0,33\%$), cis- β -guaiano ($6,48 \pm 0,05\%$), di-hidro-arturmerona ($6,08 \pm 0,78\%$), canfeno juniper ($6,44 \pm 0,45\%$) e cubenol ($5,49 \pm 0,99\%$) (Figura 4). A fração de monoterpeno foi relativamente pequeno, representando apenas $3,95 \pm 0,02\%$ do total do óleo. Estes resultados sugerem que a distribuição e o acúmulo de monoterpenos e sesquiterpenos em óleos de *C. pulegioides* podem variar, dependendo da parte da planta investigada.

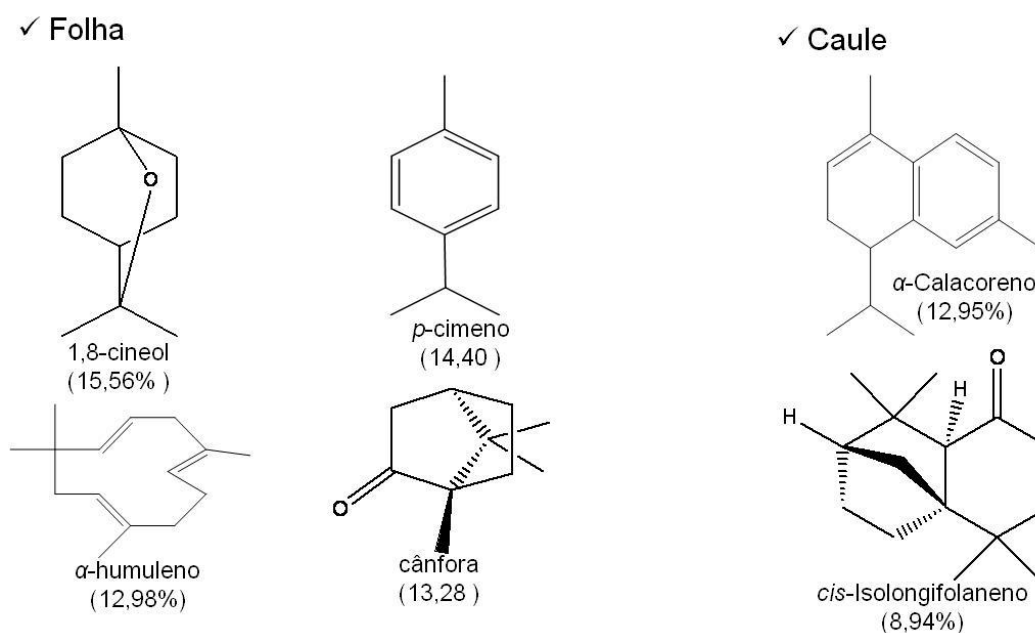


FIGURA 4: Componentes majoritários do *Croton pulegioides*.

De acordo com as análises de CG e CG / EM do óleo da folha e do caule de *C. rhamnifolius var. helliotropiolioides*, a composição química dos dois óleos é qualitativamente similar. Cerca de 23 e 27 componentes foram identificados no óleo essencial das folhas e caule de *C. rhamnifolius var. helliotropiolioides*, compreendendo $94,48 \pm 0,22\%$ e $99,21 \pm 0,15\%$, respectivamente. Todos os compostos identificados no óleo das folhas foram encontrados no óleo do caule. A principal diferença entre os dois óleos foi a ausência de δ -cadinene, epi- α -muurolol, α -muurolol e cubenol no óleo da folha. Ambos os óleos foram caracterizados por altas porcentagens de sesquiterpenos ($89,81 \pm 0,01\%$ na folha e $87,59 \pm 0,05\%$ no caule), principalmente β -cariofileno ($20,82 \pm 0,48\%$), espatulenol ($16,37 \pm 0,56\%$) e germacreno B ($9,33 \pm 0,09\%$) no óleo das folhas e guaiol ($18,38 \pm 0,84\%$), β -elemene ($17,28 \pm 0,06\%$) e valerianol ($10,62 \pm 0,84\%$) no óleo do caule. (Figura 5). Comparando-se as frações Sesquiterpenoides em ambos os óleos, o óleo das folhas foi dominada por

hidrocarbonetos sesquiterpenos ($49,33 \pm 0,02\%$), enquanto que o óleo do caule foi rico em sesquiterpenos oxigenados ($50,34 \pm 0,12\%$). Fenilpropanóides têm sido relatadas por constituir o óleo da espécie *Croton* coletados no estado de Pernambuco (DIAS *et al*, 2006), bem como outras regiões do Brasil (CRAVEIRO *et al*, 1981) e do mundo, como a Venezuela (COMPAGNONE *et al*, 2010) e México (PEREZ-AMADOR *et al*, 2003). Os resultados aqui apresentados revelam que apenas *C. rhamnifolius* var. *heliotropiifolius* é composta de derivados fenilpropanóides. Elemicina e foeniculina representava menos de 2% e 5% do óleo da folha e do caule, respectivamente.

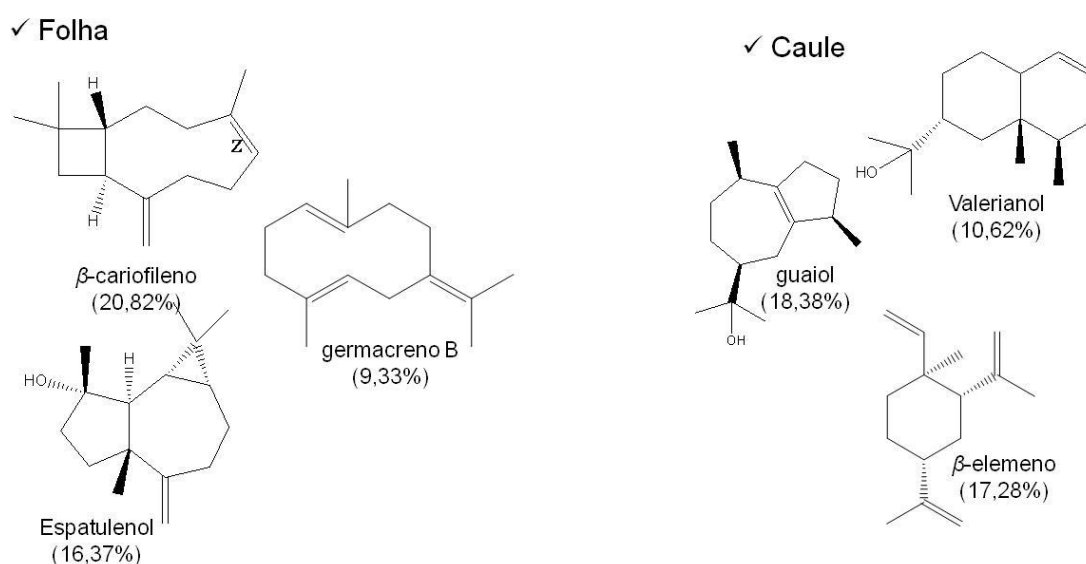


FIGURA 5: Componentes majoritários do *Croton rhamnifolius* var. *heliotropiifolius*

Estudos sistemáticos sobre química dos óleos essenciais de um número de espécies brasileiras têm sido realizados, com os componentes principais relatado por ser α , β -pineno, linalol ou β -cariofileno (RADULOVIC *et al*, 2006). Entre estes compostos, α -e β -pineno só foram encontrados no óleo de folhas de *C. pulegioides*, mas em montantes inferiores a 1%. Linalol ($3,67 \pm 0,15\%$)

também foi encontrado neste óleo, mas não como um componente principal. O óleo de *C. rhamnifolius* var. *heliotropiifolius* revelou um perfil químico que é mais característico do gênero *Croton*. A presença de β -cariofileno em quantidades significativas no óleo da folha ($20,82 \pm 0,48\%$) e caule ($8,05 \pm 0,11\%$) está de acordo com a proposta apresentada pelo Bracho & Crowle (1966) que a ocorrência de β -cariofileno como um dos principais constituintes pode ser uma característica do óleo essencial do *Croton*. A partir da comparação das composições químicas, os óleos de duas espécies de *Croton* analisados no presente estudo parecem ser bastante diferentes. Estes resultados revelam que a variabilidade (diferenças e / ou semelhanças) na composição de óleos essenciais depende essencialmente sobre a origem das amostras, bem como a influência de circunstâncias geográficas e climáticas.

3.3 Composição química e ação acaricida do óleo essencial da *Eugenia uvalha* Cambess sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch).

Na Tabela 5 são mostrados os rendimentos e os constituintes químicos identificados por CG/EM nos óleos essenciais das folhas, caule e flores de *Eugenia uvalha*. Os rendimentos variaram de $0,003 \pm 0,001\%$ para o óleo do caule até $0,99 \pm 0,01\%$ para a flor. A análise por CG/EM permitiu a identificação de $96,9 \pm 1,4\%$, $97,5 \pm 0,4\%$ e $100,0 \pm 0,6\%$ dos compostos presentes nos óleos da folha, caule e flor, respectivamente.

Na tabela 5 está descrito a rotação específica para as folhas ($-13,2^\circ$), caule ($-18,5^\circ$) e flores ($-3,2^\circ$) do óleo essencial da *E. uvalha*. Os óleos são destrorotatórios, isso pode ser justificado observando a rotação específica de alguns constituintes majoritários nos óleos. Para o β -cariofileno (majoritário nas folhas, caule e flores) há relato de uma rotação específica de $-13,0^\circ$ (LARIONOV & COREY, 2008), este acréscimo ou decréscimo no valor pode ser devido aos outros componetes presentes no óleo. Nas folhas, o óxido de cariofileno ($-70,8^\circ$) (FLEISCHER, 1997) é o segundo composto majoritário enquanto que no caule o segundo composto em maior quantidade é o γ -muuroleno ($-0,5^\circ$) (WESTFELT & WICKBERG, 1967) e nas flores o segundo em maior percentual relativo é o germacreno D com uma rotação específica de $-189,0^\circ$ (HAYMANA & WEAVERSA, 1990). Neste último caso os compostos minoritários têm uma maior contribuição para a diminuição da rotação.

Tabela 5. Percentual de constituintes químicos de diferentes partes de *Eugenia uvalha*.

Compostos ^a	I.R. ^b	I.R. ^c	Folha	Caule	Flor
%±DP			0,17±0,03	0,003±0,001	0,99±0,01
[α] _D ²⁶ (c=1,CH ₂ Cl ₂)			-13,2 ^o	-18,5 ^o	-3,2 ^o
α-Cubebeno	1355	1351	1,7±0,2	-	0,9±0,2
Isoledeno	1369	1373	-	-	4,6±0,2
α-Copaeno	1371	1376	5,4±0,3	-	-
β-Bourboneno	1382	1384	2,6±0,1	-	0,4±0,3
β-Cubebeno	1386	1390	-	-	0,2±0,1
β-Elemeneno	1386	1391	1,9±0,1	-	0,9±0,2
β-cariofileno	1413	1418	24,3±0,3	-	33,6±0,1
β-Gurjuneno	1436	1432	1,5±0,1	-	0,2±0,1
Aromadendreno	1434	1439	0,9±0,1	-	-
6,9-guaiadieno	1438	1442	0,5±0,0	-	-
α-Humuleno	1459	1454	6,2±0,2	-	9,8±0,2
Allo-Aromadendreno	1469	1461	1,1±0,0	-	-
9-epi-(E)-cariofileno	1460	1464	0,4±0,0	-	-
cis-muuro-la-4(14),5-dieno	1461	1465	0,6±0,0	-	-
γ-Muuroleno	1480	1477	6,3±0,2	-	0,5±0,2
Germacreno D	1485	1480	-	-	0,6±0,1
Valenceno	1495	1491	3,8±0,1	-	13,8±0,4
Viridifloreno	1498	1493	1,1±0,1	-	0,3±0,1
Biciclogermacreno	1499	1494	-	-	2,1±0,3

α -Muuroleno	1503	1499	8,6 \pm 0,3	-	0,7 \pm 0,2
<i>E</i> - β -Guaieno	1501	1500	-	-	0,4 \pm 0,3
γ -patchouleno	1503	1502	1,0 \pm 0,1	-	-
δ -amorpheno	1509	1511	0,1 \pm 0,0	-	-
γ -Cadineno	1515	1513	1,5 \pm 0,1	-	0,5 \pm 0,2
δ -Cadineno	1520	1524	-	-	9,5 \pm 0,1
Cadina -1,4-Dieno	1538	1532	-	-	0,4 \pm 0,3
α -Cadineno	1540	1538	-	-	0,3 \pm 0,2
α -Calacoreno	1547	1542	-	-	0,5 \pm 0,1
Germacreno B	1561	1556	0,8 \pm 0,1	-	1,6 \pm 0,2
Espatulanol	1578	1576	-	5,5 \pm 0,1	-
Óxido de cariofileno	1584	1581	14,6 \pm 0,4	42,4 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1
Thujopsan-2- β -ol	1585	1589	1,5 \pm 0,1	-	-
Longiborneol	1599	1592	-	2,8 \pm 0,1	-
Cedrol	1602	1596	-	0,7 \pm 0,1	-
Epóxido de Humuleno II	1612	1606	3,9 \pm 0,1	7,5 \pm 0,1	-
β -Oplopenono	1612	1606	-	-	0,9 \pm 0,1
1,10-di-epi-cubenol	1618	1618	1,4 \pm 0,2	-	-
<i>E</i> -Isolongifolanono	1620	1618	-	1,8 \pm 0,1	-
<i>Z</i> -Asarona	1628	1622	-	-	1,6 \pm 0,2
1-epi-Cubenol	1632	1627	-	6,5 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1
α -Acorenol	1634	1630	1,1 \pm 0,1	-	-
Cubenol	1649	1642	-	-	3,8 \pm 0,1
α -Muurolol	1650	1645	3,4 \pm 0,2	3,7 \pm 0,1	-

α -Cadinol	1660	1653	0,6 \pm 0,0	14,1 \pm 0,1	3,3 \pm 0,2
Khusinol	1676	1674	-	10,5 \pm 0,1	-
<i>E</i> -Asarona	1681	1679	-	-	0,6 \pm 0,1
<i>Z</i> - α -trans-Bergamotol	1691	1693	-	2,0 \pm 0,4	-
<i>Monoterpeno</i>			-	-	-
<i>Monoterpeno oxigenado</i>			-	-	-
<i>Sesquiterpenos</i>			70,4 \pm 1,0	-	81,9 \pm 0,3
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>			26,5 \pm 0,4	97,5 \pm 0,4	18,1 \pm 0,3
Total			96,9 \pm 1,4	97,5 \pm 0,4	100 \pm 0,6

^aCompostos listados de acordo com a eluição em coluna não polar DB-5, ^bÍndices de retenção calculados baseados nos tempos de retenção em comparação com a uma série de *n*-alcanos em coluna de capilaridade de 30m DB-5 ^cÍndices de retenção da literatura.

O óleo essencial extraído das folhas de *Eugenia uvalha* foi caracterizado pela presença de sesquiterpenos (70,4 \pm 1,0) e sesquiterpenos oxigenados (26,5 \pm 0,4), enquanto que o caule apresentou apenas sesquiterpenos oxigenados (97,5 \pm 0,4); já o óleo essencial extraído das flores apresentou tanto sesquiterpenos (81,9 \pm 0,3) como sesquiterpenos oxigenados (18,1 \pm 0,3). O componente principal encontrado no óleo das folhas foi o β -cariofileno (24,3 \pm 0,3), seguido de óxido de cariofileno (14,6 \pm 0,4), α -muuroleno (8,6 \pm 0,3), γ -muuroleno (6,3 \pm 0,2), α -humuleno (6,2 \pm 0,2) e α -copaeno (5,4 \pm 0,3) (Figura 6).

Quanto ao perfil químico encontrado para o óleo essencial do caule, óxido de cariofileno (42,4 \pm 0,1), α -cadinol (14,1 \pm 0,1), Khusinol (10,5 \pm 0,1), epóxido de humuleno II (7,5 \pm 0,1), 1-epi-cubenol (6,5 \pm 0,1) e Espotulenol (5,5 \pm 0,1), foram os constituintes principais para o óleo encontrado nesse estudo (Figura 6).

O óleo essencial das flores de *Eugenia uvalha* apresentou como principais constituintes β -cariofileno ($33,6\pm 0,1$), valenceno ($13,8\pm 0,4$), α -humuleno ($9,8\pm 0,2$), δ -cadineno ($9,5\pm 0,1$) e óxido de cariofileno ($5,8\pm 0,1$) (Figura 6).

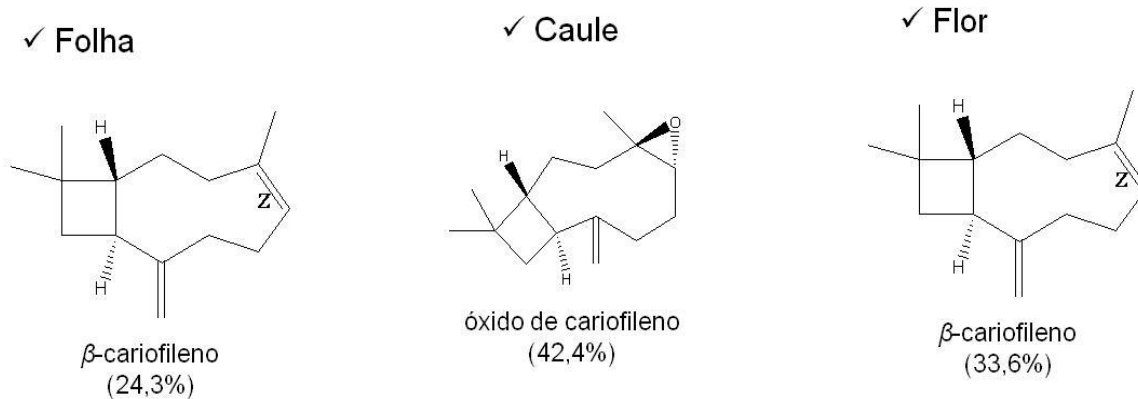


FIGURA 6: Componentes majoritários de *E. uvalha*.

Os óleos essenciais extraídos de diferentes partes (folha, caule e flores) de *E. uvalha* demonstrou o mesmo perfil químico tendo como classe química predominante os sesquiterpenos e os sesquiterpenos oxigenados tanto para as folhas como para as flores, contudo o caule apresentou apenas sesquiterpenos oxigenados. Como constituinte principal as folhas e as flores apresentaram o β -cariofileno ($24,3\pm 0,3$ e $33,6\pm 0,1$, respectivamente), enquanto que no caule o óxido de cariofileno ($42,4\pm 0,1$) foi o composto em maior percentual, este encontrado como segundo majoritário no óleo essencial das folhas ($14,6\pm 0,4$) e em menor percentual no óleo das flores ($5,8\pm 0,1$).

Este é o primeiro relato da composição química do caule, contudo há investigações prévias da composição química das folhas, flores e frutos.

Estudos com folhas de *E. pyriformis* (*Syn. E. uvalha* (IPNI)) coletadas em Porto Alegre (APEL *et al*, 2004) e no Paraná (STEFANELLO *et al*, 2009) diferiam da nossa amostra coletada em Pernambuco. Para a coleta realizada

em Porto alegre mesmo tendo a os sesquiterpenos (89,3%) como calsse química predominanteos os constituintes majoritários foram diferentes, tendo o α -cadinol (14,0%), δ -cadineno (12,4%), T-cadinol (11,9%) e biciclogermacreno (10,2%), o β -cariofileno foi identificado, porém com um percentual de 7,2%. Para a coleta realizada no Paraná a classe química predominante foi o monoterpeno (67,2%) e os constituintes majoritários foram β -pineno (25,7%), limoneno (22,0%), óxido de cariofileno (21,3%), 1,8-cineol (14,7%) e espatulenol (13,1%), o β -cariofileno foi identificado com um percentual de 6,1%, portanto o quimiotipo da nossa espécie é caracterizado por β -cariofileno e o coletado no Paraná por β -pineno e em Porto algre por α -cadinol. Essa diferença no perfil químico pode ser devido a condições edafo-climáticas.

Investigações prévias da composição química do óleo essencial das flores da *E. Pyriformis* (*Syn. E. uvalha*) coletadas no Paraná demonstrou a classe química dos sesquiterpenos (82,5%) como predominante e apresentou o β -cariofileno (22,8%) e o germacreno D (15,3%) como componentes majoritários (STEFANELLO *et al*, 2009), este ralato está de acordo com os resultados encentrados para o óleo essencial de *E. uvalha* coletado em Pernambuco..

Stefanello *et al.* (2009) relata ainda a composição química para os frutos da *E. pyriformis* coletadas no Paraná onde identifica o óxido de cariofileno (16,2%) como componente majoritário, seguido do limoneno (12,4%).

Devido à baixa quantidade obtida para o óleo essencial do caule e flores de *Eugenia uvalha*, o potencial acaricida do óleo essencial dessa espécie foi avaliado apenas para o óleo abtido a partir das folhas.

A Figura 7 mostra os resultados da ação fumigante e a redução na quantidade de ovos após 24h de exposição do ácaro rajado às diferentes concentrações do óleo, de seus constituintes majoritários e do controle positivo (eugenol).

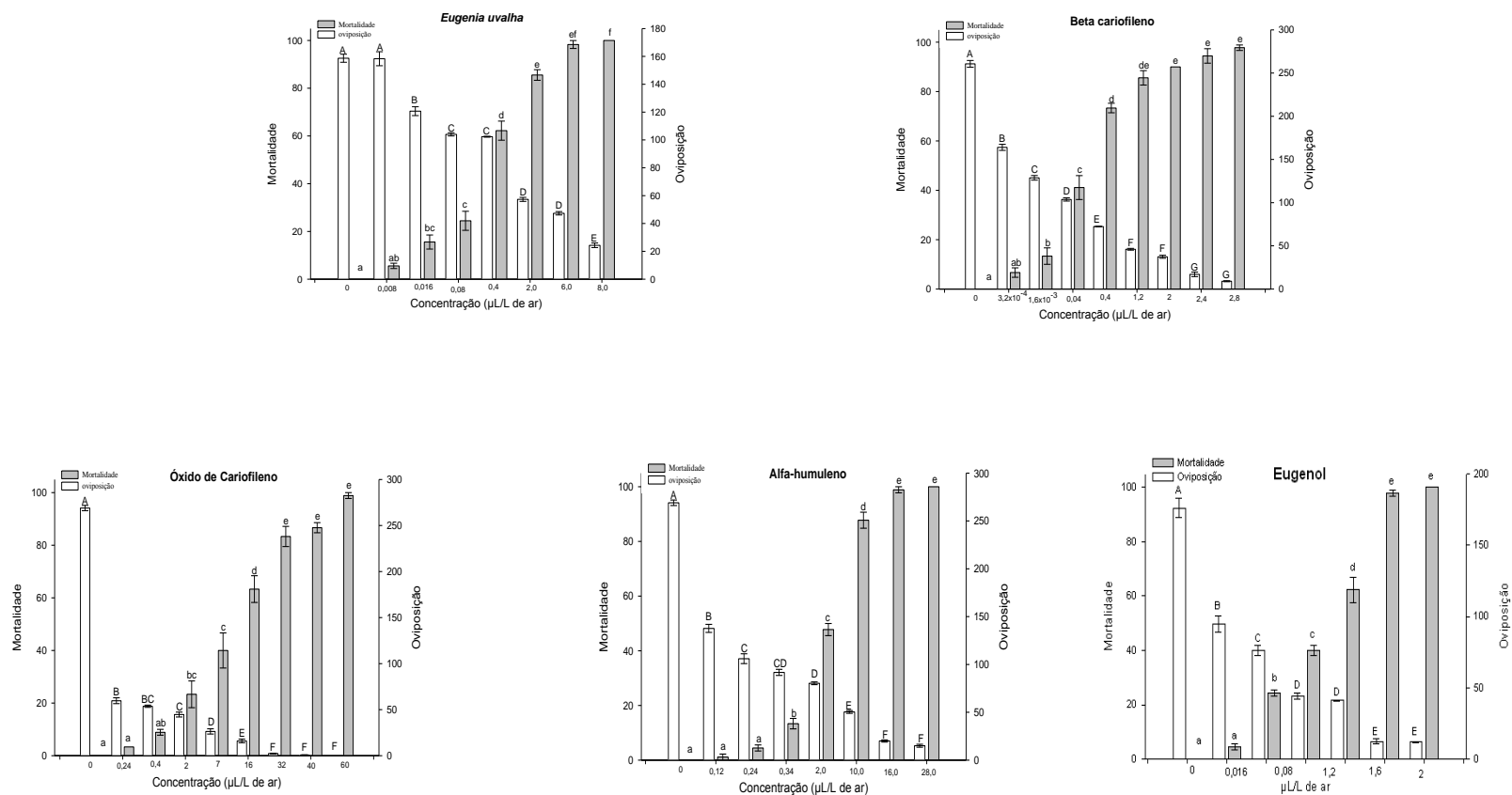


Figura 7: Mortalidade (%) e redução da quantidade de ovos de adultas fêmeas de *Tetranychus urticae* em diferentes concentrações do óleo essencial de *Eugenia uvalha*, de seus constituintes majoritários e do controle positivo (Eugenol). Gráfico de barras por espécie e compostos, barras seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si. ($p = 0.05$, Tukey test)

O óleo essencial das folhas de *E. uvalha* foi ativo contra o ácaro rajado, a menor concentração testada que promoveu uma mortalidade acima de 95% foi 6,0 µL/L de ar que provocou a mortalidade de 98,33%.

A análise de regressão linear (Figura 8) para obtenção das CL_{50} estimadas para o óleo essencial foi calculada e é mostrado na tabela 6, o óleo essencial das folhas de *E. uvalha* obteve uma CL_{50} de 0,20 µL/L de ar. O coeficiente angular (Tabela 6, Figura 8) para o óleo foi de 1,8, isso indica um grau de sensibilidade e correlação entre a mortalidade e a concentração do óleo essencial testado.

Tabela 6: Ação fumigante do óleo essencial das folhas de *Eugenia uvalha* e de seus constituintes majoritários contra fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Espécie e/ou constituinte	Parte	N	Equação (I.C. 95%)	CL ₅₀ (µL/L ar) (I.C. 95%)	χ ²	RT
<i>Eugenia uvalha</i>	Folha	630	Y=5,8+1,2logx (1,1-1,3)	0,20 (0,12-0,31)a	9,17	56,2
Óxido de cariofileno		720	Y=4,0+1,4logx (1,3-1,5)	5,80 (4,10-8,00)b	10,5	1663,4
α-humuleno		629	Y=4,5+1,8logx (1,7-1,9)	1,80 (1,30-2,50)c	8,41	523,7
β-cariofileno		720	Y=5,1+0,8logx (0,3-1,1)	0,05 (0,02-0,08)d	9,12	12,8
Eugenol		540	Y=7,1+0,8logx (0,7-0,9)	4,0x10 ⁻³ (2x10 ⁻³ -5x10 ⁻³)	1,52	-

n = número de ácaros/dose; I.C.= Intervalo de confiança; RT = razão de toxicidade; χ² chi-quadrado; Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si (p = 0.05, teste Tukey).

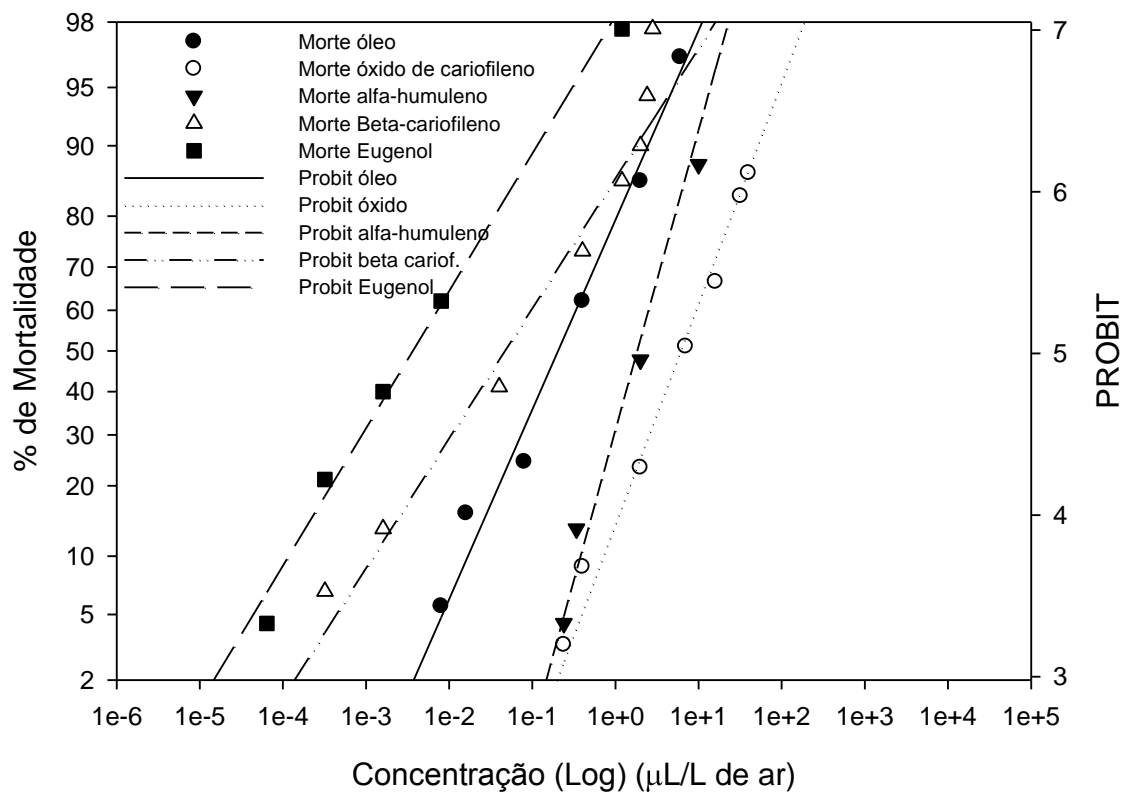


Figura 8. Curva de concentração-mortalidade para fêmeas de *T. urticae* submetidas à fumigação com óleo essencial de *E. uvalha* e aos compostos β -cariofileno, α -humuleno, óxido de cariofileno e eugenol.

Para observar qual o constituinte seria responsável pela toxicidade do óleo contra o ácaro rajado, foi realizado o experimento de fumigação para o β -cariofileno, óxido de cariofileno (Compostos majoritários) e α -humuleno (Constituinte minoritário), foi realizado também com o controle positivo (Eugenol).

Avaliando-se os constituintes isolados na mesma concentração (6,0 $\mu\text{L/L}$ de ar) do óleo essencial das folhas de *E. uvalha* que causou a mortalidade de $98,33 \pm 1,46\%$ observo-se que todos foram ativos contra o ácaro rajado, o eugenol e o β -cariofileno provocaram $100 \pm 0,0\%$ de mortalidade, porém não

diferem estatisticamente do óleo essencial, enquanto que o α -humuleno causou $67,78 \pm 2,78\%$ e o óxido de cariofileno $31,11 \pm 2,0\%$.

Analisando a menor concentração de todos os constituintes que provocou uma mortalidade acima de 95%, o β -cariofileno foi o constituinte mais tóxico provocando uma mortalidade de 97,78% com uma concentração de 2,8 $\mu\text{L/L}$ de ar, seguido do α -humuleno (98,89% de mortalidade a 16,0 $\mu\text{L/L}$ de ar) e óxido de cariofileno (98,89% mortalidade a 60,0 $\mu\text{L/L}$ de ar). Esses dados levam a sugerir que o composto majoritário que contribui para o aumento da toxicidade do óleo é o β -cariofileno, e provavelmente o óxido de cariofileno e o minoritário α -humuleno agem reduzindo essa toxicidade.

O controle positivo (Eugenol) demonstrou uma maior toxicidade que o óleo essencial e seus constituintes provocando uma mortalidade de 97,78% a uma concentração de 1,2 $\mu\text{L/L}$ de ar.

A análise de regressão linear (Figura 8) para obtenção das CL_{50} estimadas para os constituintes e o controle positivo (Eugenol) foi calculada e é mostrado na tabela 6.

O controle positivo foi mais tóxico ($4,0 \times 10^{-3}$ $\mu\text{L/L}$ de ar), seguido do β -cariofileno (0,05 $\mu\text{L/L}$ de ar), α -humuleno (1,80 $\mu\text{L/L}$ de ar) e óxido de cariofileno (5,80 $\mu\text{L/L}$ de ar). Ou seja, de acordo com as razões de toxicidades calculadas, o eugenol foi 56,2; 12,8; 523,7 e 1663,4 vezes mais tóxico do que o óleo essencial das folhas de *E. uvalha*, β -cariofileno, α -humuleno e óxido de cariofileno, respectivamente. As CL_{50} estimadas para o óleo e os constituintes diferiram estatisticamente entre si.

Tal fato pode ser explicado com base nos coeficientes angulares mostrados na Tabela 6 e na Figura 8, que mostram as curvas de concentração-

mortalidade para os ácaros submetidos ao óleo essencial das folhas de *E. uvalha* e aos diferentes constituintes majoritários. Embora os resultados mostrem que o eugenol, o β cariofileno e o óleo sejam mais tóxicos que o α -humuleno e o óxido de cariofileno, o β -cariofileno e o eugenol apresentaram menor coeficiente angular (ambos com valor de 0,8) do que o óleo (1,2), óxido de cariofileno (1,4) e α -humuleno (1,8). Esse dado mostra que o intervalo das concentrações usadas para o eugenol e o β -cariofileno foi maior (Figura 8, Tabela 6). Valor maior do coeficiente angular da curva de concentração-mortalidade, observado para o α -humuleno indica um elevado grau de sensibilidade e correlação entre a mortalidade e a concentração do composto.

No mesmo experimento em que foi avaliada a ação fumigante dos óleos, também foi verificada a redução da quantidade de ovos postos pelos ácaros. A habilidade de reduzir a quantidade de ovos postos pelos ácaros, quando submetidos aos vapores dos óleos essenciais tem sido já reportada (Pontes *et al.* 2007b,c).

Os dados apresentados na Figura 7 mostram que o óleo de *E. uvalha* e de seus constituintes majoritários, bem como o controle positivo (eugenol) promoveram redução de ovos quando comparados com o controle. Essa comparação dos dados de diminuição de quantidade de ovos do óleo e dos constituintes testados com o controle mostra que o melhor resultado foi para o óxido de cariofileno, que promoveu uma redução de 77,82% de ovos na concentração de 0,24 $\mu\text{L/L}$ de ar, seguido do α -humuleno (48,82% em 0,12 $\mu\text{L/L}$ de ar); eugenol (46,21% em $6,4 \times 10^{-5}$); β -cariofileno (37,08% em $3,2 \times 10^{-4}$ $\mu\text{L/L}$ de ar) e o óleo essencial da *E. uvalha* (0,42% em 8×10^{-3} $\mu\text{L/L}$ de ar).

Observando o resultado tanto de mortalidade, assim como o de redução de ovos podemos observar que o β -cariofileno foi mais tóxico que os outros componentes sendo este o provável responsável pela toxicidade do óleo essencial, já o óxido de cariofileno reduziu bastante a quantidade de ovos em sua menor concentração testada, podendo estar relacionado a ele o potencial de reduzir a quantidade de ovos do óleo essencial das folhas de *E. uvalha*.

Devido à natureza desses bioensaios, os resultados obtidos mostram que o óleo essencial das folhas de *E. uvalha*, assim como seus constituintes são tóxicos ao ácaro através da penetração dos vapores pelas vias respiratórias. De fato, a ação fumigante desse óleo essencial pode ser justificada pelas substâncias mais voláteis, que atuam nos ácaros por meio da respiração. Mas, será que só esses componentes são os únicos responsáveis pela toxicidade de óleo essencial? Nesse caso é pertinente questionar se o tipo de bioensaio pode influenciar na ação do óleo sobre o ácaro rajado. Sendo assim, objetivando investigar a ação residual do óleo previamente investigados, decidiu-se realizar novos experimentos usando o método de contato em superfície foliar contaminada com placas fechadas.

A Figura 9 e a Tabela 7 mostram os resultados para o óleo essencial de *E. uvalha* e de seus constituintes majoritários, assim como do controle positivo (Eugenol) na toxicidade de contato com placas fechadas e a redução de quantidades de ovos.

A menor concentração do óleo essencial das folhas de *E. uvalha* que provocou 96,0% de mortalidade foi de 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$. A CL_{50} estimada para o óleo essencial da *E. uvalha* foi de 1,30 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

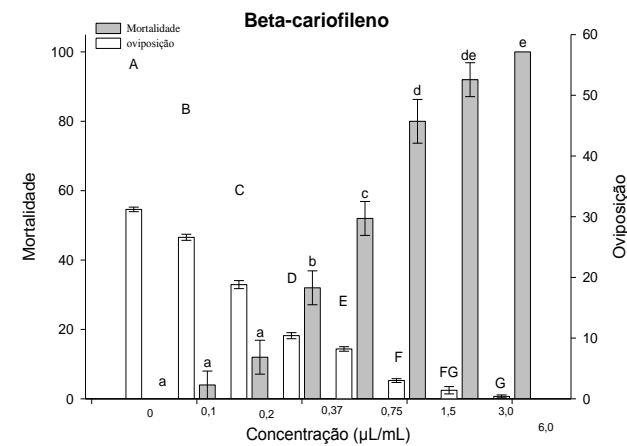
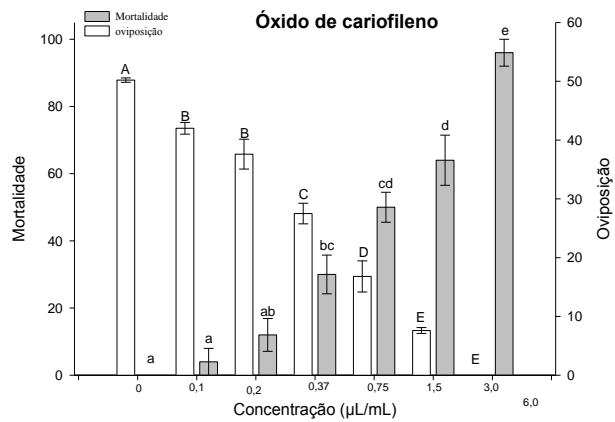
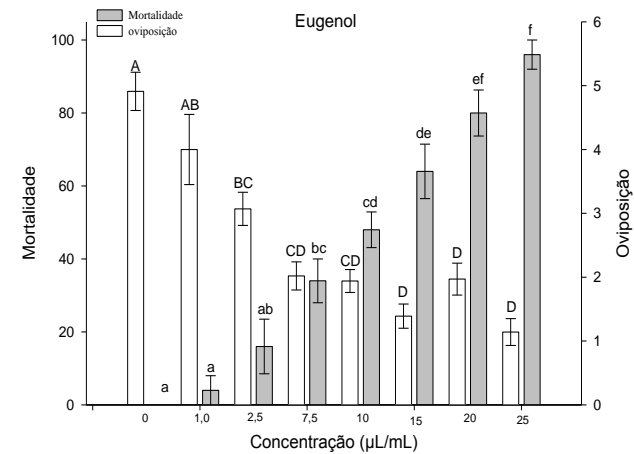
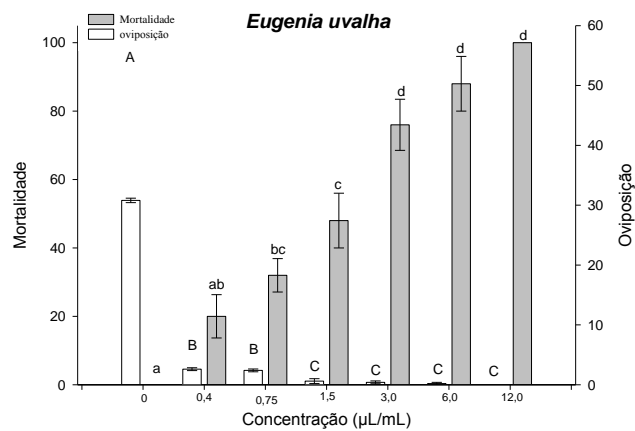


Figura 9: Atividade de contato com placas fechadas do óleo essencial das folhas de *E. uvalha*, dos constituintes majoritários e do controle positivo (Eugenol) sobre fêmeas adultas de *T. urticae*. Barras seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os constituintes majoritários foram testados na mesma concentração que o óleo essencial das folhas de *E. uvalha* (8 μ L/mL); Nesta concentração, o β -cariofileno provocou 100% de mortalidade e o óxido de cariofileno promoveu 52% de mortalidade.

A concentração do β -cariofileno necessária para promover a mortalidade acima de 90% foi cerca de 4 e 18 vezes menor do que as concentrações do óleo essencial das folhas de *E. uvalha* e do óxido de cariofileno.

As CL₅₀ estimadas para o óxido de cariofileno (8,71 μ L/mL) e o eugenol (8,74 μ L/mL) não diferiram estatisticamente entre si, contudo diferiram do β -cariofileno (0,64 μ L/mL). O eugenol (slope=2,1), o óxido de cariofileno (slope = 2,2) e o β -cariofileno (2,2) apresentaram valores de coeficientes angulares das curvas de concentração mortalidade maior quando comparado com o óleo (1,9), isso indica uma elevada correlação entre a mortalidade e a concentração do eugenol e do óxido de cariofileno, sugerindo uma maior homogeneidade da resposta na mortalidade da população dos ácaros (Tabela 7, Figura 10).

Tabela 7: Toxicidade de contato do óleo essencial das folhas de *E. uvalha* e dos constituintes β -cariofileno e Óxido de cariofileno e o controle positivo (Eugenol) sobre fêmeas adultas de *T. urticae*.

Óleo/constituente	n	Equação (I.C. 95%)	CL ₅₀ (μ L/L ar) (I.C. 95%)	χ^2	RT
<i>Eugenia uvalha</i>	150	Y=4,8+1,9logx (1,6-2,2)	1,30 (0,95-1,73)a	1,66	2,02
Óxido de cariofileno	125	Y=2,9+2,2logx (1,8-2,6)	8,71 (6,65-11,65)b	0,69	13,51
β -cariofileno	175	Y=5,4+2,2logx (1,9-2,5)	0,65 (0,50-0,83)c	0,72	-
Eugenol	174	Y=2,9+2,1logx (1,8-2,4)	8,74 (6,02-12,18)a	5,6	13,55

n = número de ácaros/dose; I.C.= Intervalo de confiança; RT = razão de toxicidade, calculada pelo método de Robertson & Preisler. *Significativo quando não apresenta o valor 1. Linhas seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente. P=0,05; χ^2 chi-quadrado;

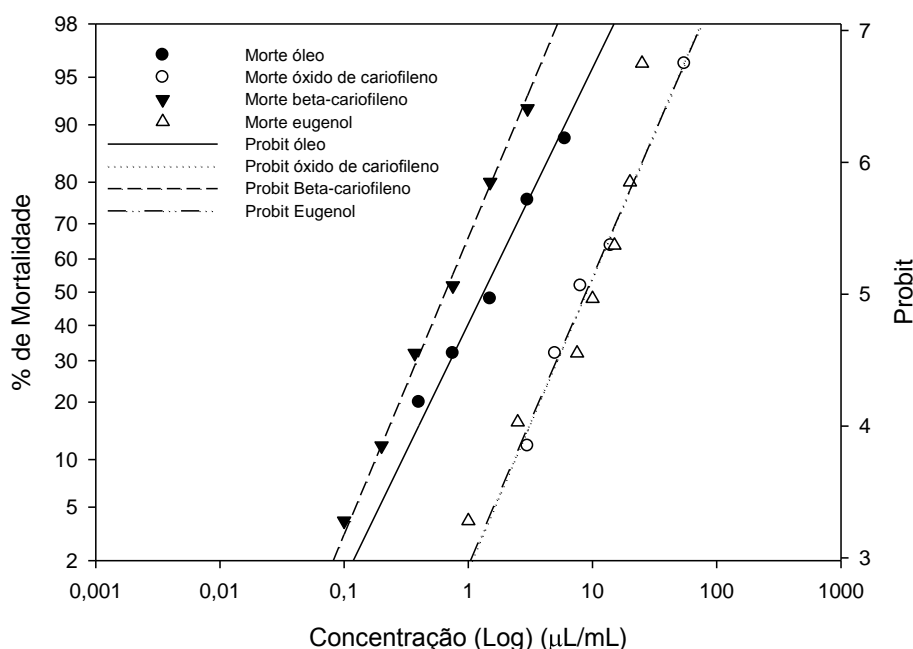


Figura 10: Curva concentração-mortalidade para fêmeas de *T. urticae* submetidas à contato com o óleo essencial das folhas de *E. uvalha*, β -cariofileno e óxido de cariofileno.

Tanto o óleo como os constituintes majoritários testados promoveram significativamente a redução de ovos quando comparados com o controle (Figura 9, Tabela 7). As menores concentrações do óleo e dos constituintes utilizadas para reduzir significativamente a quantidade de ovos nos experimentos de contato com placa fechada foram: óleo essencial (0,4 µL/mL e 93,5% de redução), óxido de cariofileno (1,5 µL/mL e 16,3% de redução), o β cariofileno (0,1 µL/mL e 14,7% de redução) e o eugenol (1,0 µL/mL e 18,53% de redução).

Esses resultados mostram que nos experimentos de fumigação, os ácaros foram mais susceptíveis ao óleo de *Eugenia uvalha* e aos constituintes majoritários do que nos bioensaios de contato com placas fechadas. Comparando as toxicidades do óleo de *E. uvalha* nos bioensaios de fumigação com os de contato com placas fechadas, foi 6500 vezes mais tóxico ao ácaro do que no teste de contato; o constituinte óxido de cariofileno foi 1500 vezes mais tóxico. O eugenol foi extremamente mais eficiente, sendo 2.185.000 mais tóxico, seguido do β-cariofileno, 14 mil vezes mais tóxico pelo método de fumigação.

Os resultados obtidos para ambos os métodos para avaliar a toxicidade de óleos essenciais e seus constituintes majoritários sobre o ácaro rajado, corroboram a premissa de que o tipo de bioensaio pode influenciar na susceptibilidade dos ácaros. Fatores como modo de ação dos óleos (pelos vapores ou por contato e ingestão) e/ou meios de aplicação destes óleos nos distintos métodos podem levar a diferentes susceptibilidades dos ácaros a estes óleos.

Provavelmente, nos testes de contato realizados com o óleo de *E. uvalha* e seus constituintes majoritários, perdas significativas dos componentes mais voláteis do óleo ou dos próprios constituintes podem ter ocorrido por evaporação, devido ao fato de que a aplicação do óleo no bioensaio de fumigação é feita diretamente no papel de filtro e logo em seguida a câmara de fumigação é fechada. Nos testes de contato, a placa de Petri usada como arena só é fechada após a secagem (20min) das soluções contendo o óleo, previamente preparadas, e após a transferência dos ácaros.

Essas diferenças metodológicas principalmente aquelas relacionadas com a forma de aplicação dos óleos, justificam em parte a grande diferença observada na susceptibilidade dos ácaros quando submetidos ao óleo de *E. uvalha* por meio de bioensaios de fumigação e de contato.

Todos os bioensaios realizados até o momento têm demonstrado que o óleo de *Eugenia uvalha* tem sido tóxico através da ação dos vapores (por fumigação) e por meio de seu contato com os tarsos e/ou pela ingestão do alimento. Mas será que esse óleo também atua no comportamento dessa praga? Nesse sentido, experimentos de repelência e de preferência de oviposição e alimentar foram realizados com o óleo foliar de *E. uvalha* e de seus constituintes majoritários (β -cariofileno e óxido de cariofileno) sobre o ácaro rajado.

O experimento de repelência revelou que o óleo das folhas de *E. uvalha* atuou no comportamento do ácaro rajado, revelendo-se fortemente repelente. Na concentração de $5,09\mu\text{L}/\text{cm}^2$, o óleo promoveu 100% de repelência.

A concentração média de repelência (CR_{50}) do óleo das folhas de *E. uvalha* é mostrada na Tabela 8. O óleo atuou no comportamento dos ácaros. O

eugenol (slope=0,4) apresentou um valor maior de coeficiente angular que o óleo (0,7), isso indica uma elevada correlação entre a repelência e a concentração do eugenol, sugerindo uma maior homogeneidade da resposta na repelência da população dos ácaros (Tabela 8, Figura 11), contudo para o óleo essencial isso indica um grau de sensibilidade e correlação entre a repelência e a concentração do óleo essencial testado.

De acordo com a concentração média de repelência (CR₅₀) estimada (0,01µL/cm²), o óleo de *E. uvalha* foi 6,5 vezes menos repelente do que o controle positivo, eugenol (Figura 11).

Tabela 8: Atividade repelente do óleo essencial das folhas de *E. uvalha* sobre fêmeas adultas de *T. urticae*.

Espécie	N	Equação (I.C. 95%)	CR ₅₀ (µL/cm ²) (I.C. 95%)	χ ²
<i>Eugenia uvalha</i>	900	Y=5,4+0,7logx (0,66-0,74)	0,013 (0,01-0,03)	7,63
Eugenol	874	Y=6,0+0,4logx (0,3-0,5)	0,002 (0,001-0,003)	1,88

n=número de ácaros/dose; I.C.=Intervalo de confiança; P=0,05; χ² chi-quadrado;

Na figura 12 é mostrado o percentual de repelência para o óleo essencial das folhas de *E. uvalha* em comparação com os seus constituintes majoritários. Observa-se que o β-cariofileno (% de repelência=81,3±2,5%) contribui mais para a repelência dos ácaros que o óxido de cariofileno (% de repelência=73,3±1,6%), ambos avaliados na maior concentração do óleo testado que repeliu 100,0±0,0% dos ácaros (5,09µL/cm²).

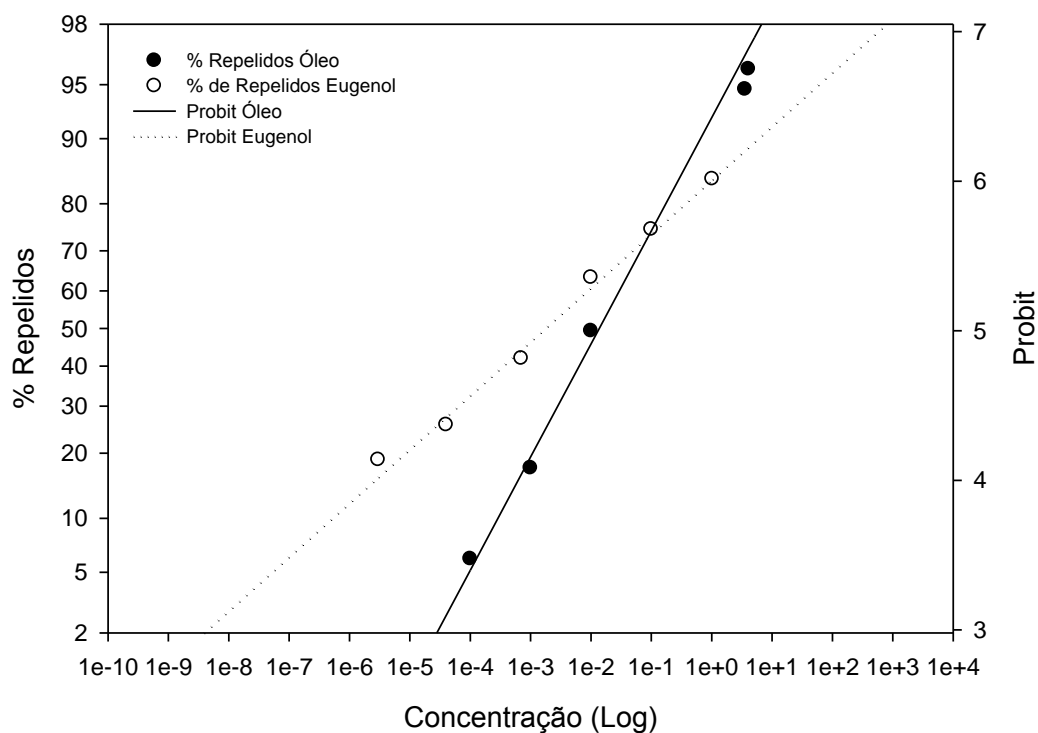


Figura 11: Curva de concentração-repelição para fêmeas de *T. urticae* submetidas ao óleo essencial de *E. uvalha* e ao controle positivo.

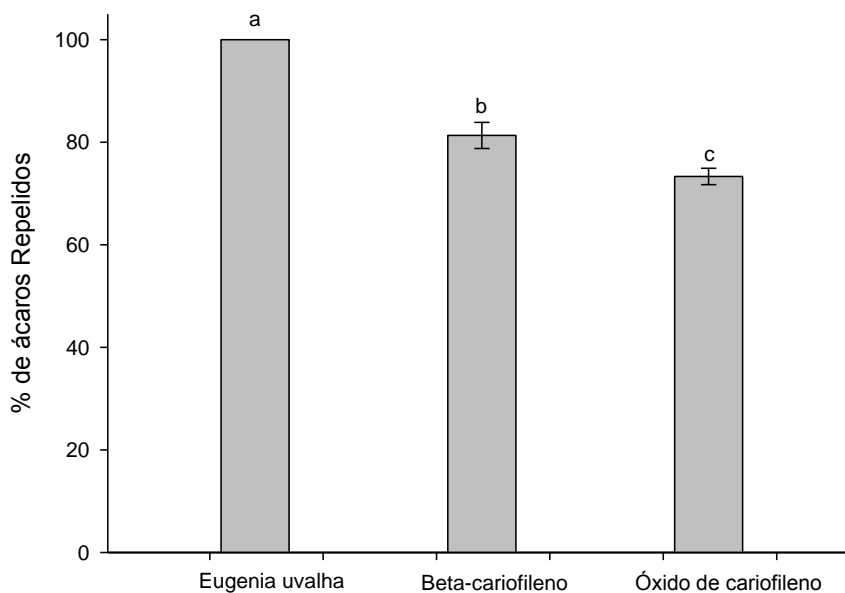


Figura 12: % de repelição do óleo essencial das folhas de *E. uvalha* e dos constituintes β -cariofileno e óxido de cariofileno na concentração de $5,09\mu\text{L}/\text{cm}^2$.

Os resultados obtidos nos experimentos de repelência e preferência de oviposição para o óleo de *E. uvalha* e dos constituintes β -cariofileno, óxido de cariofileno e α -humuleno são mostrados na Figura 13. Nesse experimento avaliou-se para cada óleo a ação repelente e a preferência de oviposição dos ácaros nos intervalos de 1h, 12h, 24h e 48h.

Tanto o óleo essencial das folhas da *Eugenia uvalha* como os constituintes β -cariofileno, α -humuleno e óxido de cariofileno interferiram na preferência dos ácaros para os discos controle nos testes de dupla escolha. A Tabela 9 mostra as médias de ácaros nos discos tratados e não tratados após 1h, 12h, 24h e 48h quando expostos ao óleo e aos constituintes.

O óleo essencial foi repelente até 24h, isso pode ser justificado observando no cromatograma, pelo desaparecimento de alguns constituintes (Figura 13). O óxido de cariofileno e o α -humuleno foram repelentes até 24h, entretanto o β -cariofileno permaneceu até 48h como repelente.

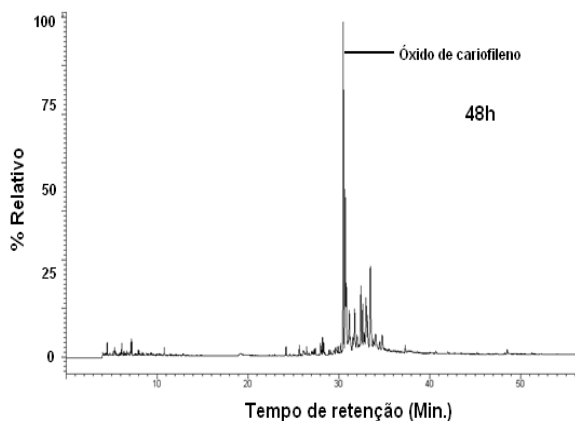
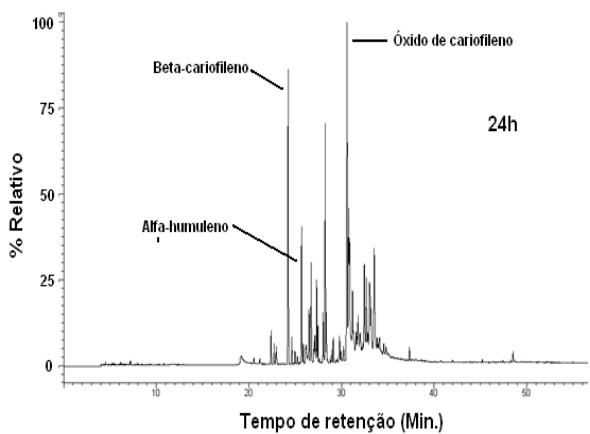
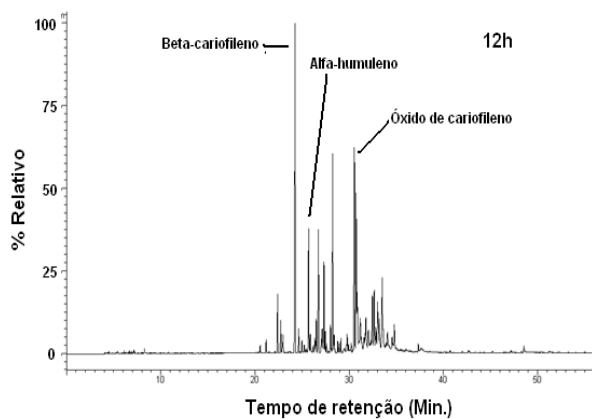
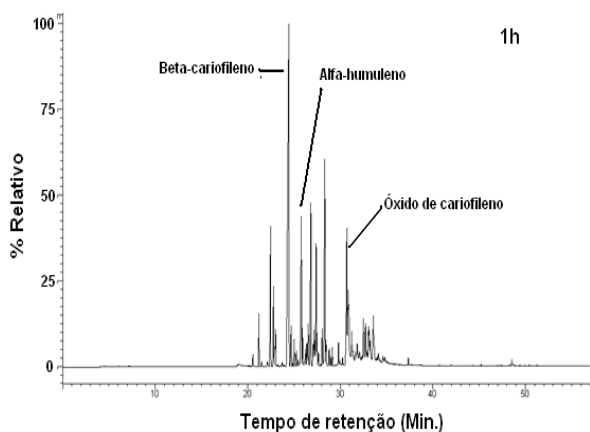
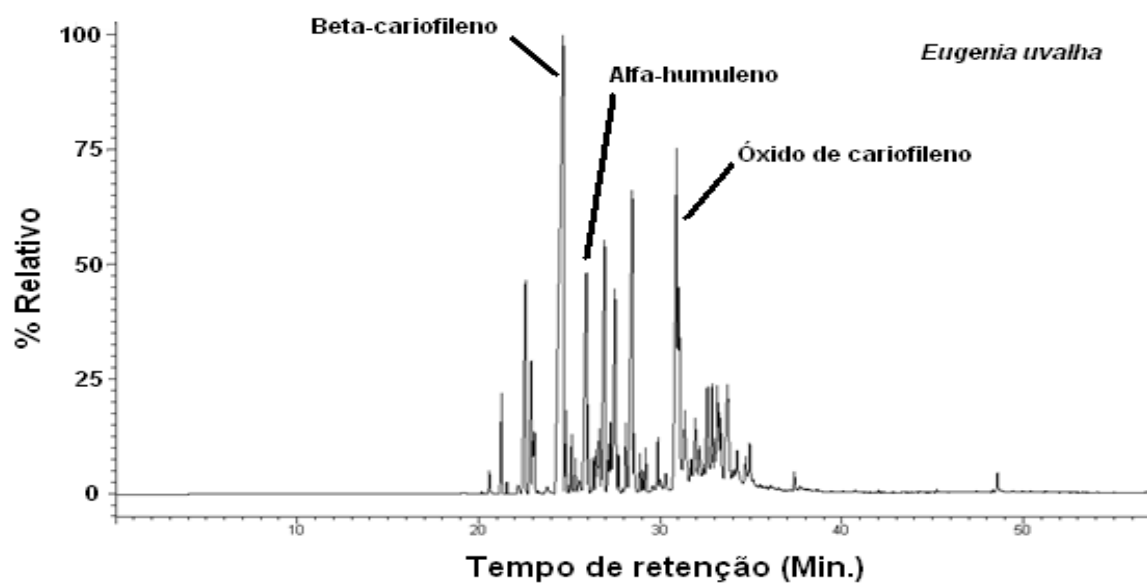


Figura 13: Cromatogramas do óleo essencial de *E. uvalha* com Zero, 1, 12, 24 e 48h de volatilidade.

Tabela 9: Valores médios do número de ácaros e de ovos de *T. urticae*, após 1, 12, 24 e 48h de exposição ao óleo essencial de *Eugenia uvalha*, β -cariofileno, α -humuleno e óxido de cariofileno.

Óleo e/ou constituente	Nº de ácaros (média±EP)							
	1h		12h		24h		48h	
	C	T	C	T	C	T	C	T
<i>Eugenia uvalha</i>	22,8±0,81	7,2±0,81	15,5±1,31	14,5±1,31	15,2±1,17	14,8±1,17	12,7±0,97	17,3±0,97
β -cariofileno	26,7±0,79	3,3±0,79	18,1±1,22	11,9±1,22	17,8±1,01	12,2±1,01	15,2±1,57	14,8±1,57
α -humuleno	22,7±1,06	7,3±1,06	13,9±2,01	16,1±2,01	13,6±2,21	16,4±2,21	13,0±1,97	17,0±1,97
Óxido de cariofileno	25,3±0,77	4,7±0,77	17,5±1,12	12,5±1,12	17,3±1,17	12,7±1,17	14,3±1,33	15,7±1,33
Óleo/constituente	Nº de ovos (média±EP)							
	1h		12h		24h		48h	
	C	T	C	T	C	T	C	T
<i>Eugenia uvalha</i>	2,9±0,84	0,2±0,2	11,2±1,09	2,1±0,45	41,5±1,36	3,7±0,55	67,2±1,54	6,7±0,66
β -cariofileno	4,4±0,98	1,5±0,50	43,4±0,71	6,9±0,59	83,9±1,58	25,3±1,06	92,3±1,55	35,6±0,73
α -humuleno	11,3±0,39	0,7±0,26	24,9±0,67	12,7±0,33	35,2±0,95	23,1±0,54	51,4±0,99	31,9±0,40
Óxido de cariofileno	5,1±0,67	0,6±0,22	20,9±0,60	14,3±0,76	48,9±1,33	44,9±0,62	56,9±0,91	46,8±0,66

C = controle

T = Tratamento

De acordo com a Figura 14, a quantidade de ácaros expostos ao óleo, α -humuleno, óxido de cariofileno e β -cariofileno nas primeiras horas de avaliação foi expressivamente maior no controle do que no tratamento, havendo diferença estatística significativa. Após 48h os ácaros encontravam-se mais no disco do tratamento que no disco do controle isto para o óleo essencial das folhas de *E. uvalha* ($F(3,36)=16,09, p<0,0001$) o que pode ser observado também para o α -humuleno ($F(3,36)=6,09, p>0,001$), enquanto que para o β cariofileno ($F(3,36)=17,82, p<0,0001$) e o óxido de cariofileno ($F(3,36)=17,57, p<0,0001$), os ácaros encontravam-se igualmente distribuídos em ambos os discos.

No bioensaio de dupla escolha, a preferência dos ácaros, após 48h de exposição ao óleo de *E. uvalha* e ao composto α -humuleno, para os discos tratados pode ser justificada devido ao fato de que esses experimentos são realizados em sistema aberto, ao contrário dos bioensaios de repelência, que são fechados. O teste de dupla escolha permite a volatilização completa de alguns componentes mais voláteis no período de 48h, sugerindo que os componentes menos voláteis não apresentem ação repelente.

Por outro lado, os ácaros expostos aos compostos óxido de cariofileno e β -cariofileno mostraram a mesma preferência para os discos controle e tratados. Esses dados somados com os dos bioensaios de repelência sugerem que tanto os componentes com maior e menor volatilidade são responsáveis pela ação repelente. Esses resultados estão de acordo com aqueles registrados por Miresmailli & Isman (2006) para o óleo essencial de *R. officinalis* sobre *T. urticae*. Os autores reportaram que o óleo foi repelente, mas que esse efeito declinou significativamente com o tempo e, após 48h, não houve

mais diferença, o que foi observado no presente estudo. Provavelmente os constituintes menos voláteis presentes no óleo essencial de *R. officinalis* não atuaram no comportamento dos ácaros, permitindo sua movimentação dos discos controle para os tratados.

Na Figura 14 pode ser visto que a ocorrência dos ácaros, mesmo em pequena quantidade, aumentou com o passar do tempo para os discos tratados com o óleo, α -humuleno, β -cariofileno e óxido de cariofileno.

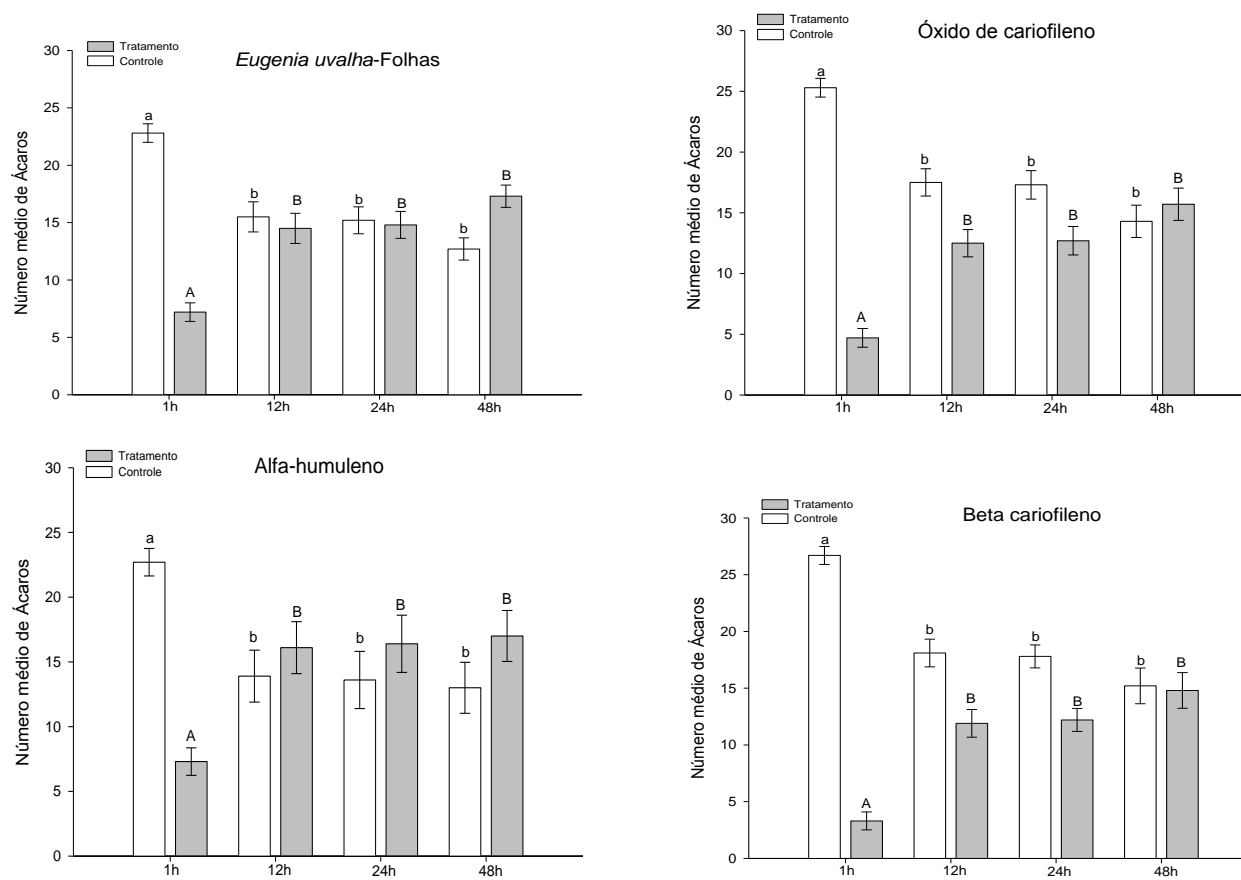


Figura 14. Número médio de ácaros nos discos de folhas tratados e não tratados com óleo essencial de *E. uvalha*, óxido de cariofileno, α -humuleno e β -cariofileno em 1, 12, 24 e 48h após o tratamento.

A Figura 15 mostra a quantidade média de ovos postos por fêmeas do ácaro rajado expostas ao óleo essencial de *E. uvalha*, β -cariofileno, α -humuleno e óxido de cariofileno. O óleo de *E. uvalha* ($F(3,36)=30,04$, $p<0,0001$) interferiu drasticamente na preferência dos ácaros durante todo o período, para oviposição, assim como para o β cariofileno ($F(3,36)=1235,02$, $p<0,0001$). O óxido de cariofileno ($F(3,36)=1438,36$, $p<0,0001$) e o α -humuleno ($F(3,36)=1124,19$, $p<0,0001$) não interferiu significativamente na preferência dos ácaros, durante todo o período, para oviposição. Por outro lado, de acordo com os resultados do teste F ($p = 0,05$) obtidos para o óleo e para os compostos indicam que todos eles atuaram significativamente na preferência dos ácaros durante todo o período de exposição. Considerando que a composição química do óleo testado é outra, após 48h de exposição dos ácaros, devido à evaporação dos constituintes mais voláteis, esses resultados sugerem que a presença dos componentes de menor volatilidade, presentes em maior quantidade após 48h, sejam os responsáveis pela preferência de oviposição observadas para os ácaros.

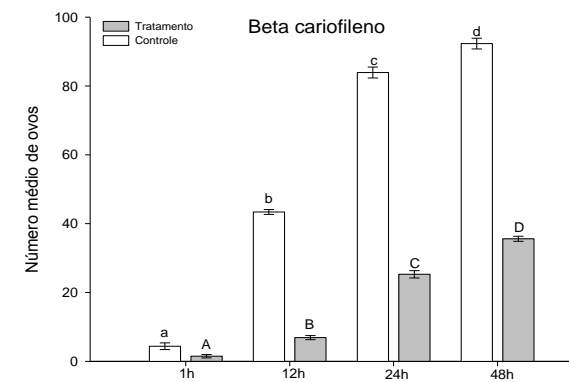
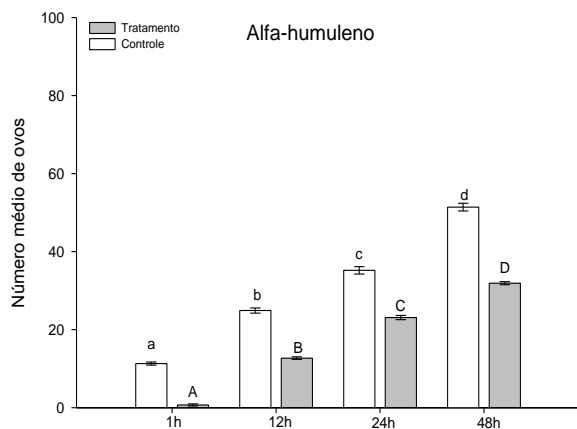
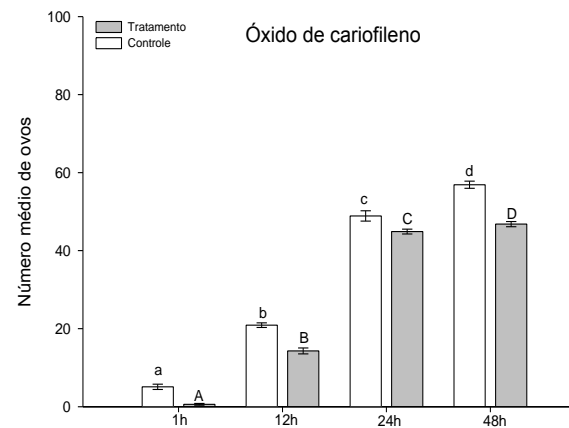
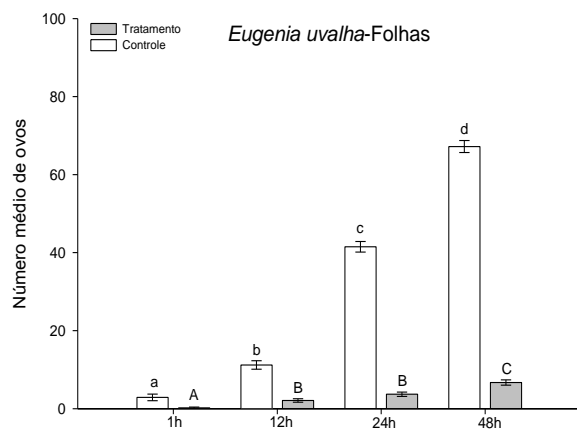


Figura 15. Número médio de ovos nos discos de folhas tratados e não tratados com óleo essencial de *E. uvalha*, óxido de cariofileno, α -humuleno e β -cariofileno em 1, 12, 24 e 48h após o tratamento.

Esses resultados estão de acordo com os reportados por Miresmailli & Isman (2006). Segundo os autores, embora com o passar do tempo tenha sido observada a movimentação dos ácaros entre os discos tratados e não tratados, o óleo de *R. officinalis*, após 48h, alterou o comportamento dos ácaros, que preferiram os discos controle para ovipositar. O mesmo foi observado para o óleo de *E. uvalha* e os compostos testados (β -cariofileno, α -humuleno e óxido de cariofileno).

Este é o primeiro relato da ação do óleo essencial da espécie *Eugenia uvalha* sobre o ácaro rajado. Os resultados obtidos sugerem que as diferentes atividades letais e subletais observadas para o óleo essencial pode estar relacionadas às diferenças qualitativas e quantitativas nas composições químicas do óleo essencial.

O emprego das diferentes metodologias para avaliação da ação letal e subletal do óleo de *Eugenia* sugere que os constituintes químicos voláteis são fundamentais na toxicidade e mudança de comportamento da praga, mas que os compostos com menor volatilidade também tem sua contribuição na propriedade acaricida observada para o óleo estudado. Os resultados dos testes letais e subletais obtidos para o óleo de *Eugenia uvalha* indica que esse óleo apresenta potencial acaricida para o controle de *T. urticae*, uma vez que pode ser combinados com outras táticas de controle para serem utilizados no manejo integrado do ácaro rajado. No entanto, novos estudos devem ser conduzidos para avaliar o custo e a eficiência desse óleo essencial em casa de vegetação assim como na preparação de formulações para serem utilizadas em ambientes abertos, sua ação contra inimigos naturais, bem como a fitotoxicidade desse óleo em plantas hospedeiras do ácaro rajado.

3.4. Composição química e ação acaricida dos óleos essenciais do *Croton sellowii* Baill. sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch).

Na Tabela 10 são mostrados os rendimentos e os constituintes químicos principais identificados por CG/EM nos óleos essenciais das folhas, caule e flores de *Croton sellowii*. Os rendimentos variaram de $0,05 \pm 0,02\%$ para o óleo da folha até $0,02 \pm 0,01\%$ para as flores. A análise por CG-EM permitiu a identificação de $98,8 \pm 1,3\%$, $96,9 \pm 1,1\%$ e $99,2 \pm 1,5\%$ dos compostos presentes nos óleos da folha, caule e Flor, respectivamente.

Na tabela 10 está descrito a rotação específica para as folhas ($-25,8^\circ$), caule ($-24,6^\circ$) e flores ($-7,1^\circ$) do óleo essencial de *Croton sellowii*. Ambos os óleos são destrorotatórios, isso pode ser justificado observando a rotação específica de alguns majoritários. Para o β -cariofileno (majoritário nas folhas e flores) há relato de uma rotação específica de $-13,0^\circ$ (LARIONOV & COREY, 2008), este acréscimo ou decréscimo no valor pode ser devido aos outros componentes presentes no óleo, nas folhas o segundo majoritário é o óxido de cariofileno ($-70,8^\circ$) (FLEISCHER, 1997), no caule o segundo composto em maior quantidade é o α -cadinol ($-35,5^\circ$) (RUDOLFF, 1962) e nas flores o segundo majoritário é o valenceno com uma rotação específica de $+84,6^\circ$ (FURUSAWA et al, 2005), neste último caso o valenceno tem uma grande contribuição para a diminuição da rotação, porém o majoritário ainda determina a rotação específica do óleo.

Tabela 10. Percentual de constituintes químicos de diferentes partes de *Croton sellowii*.

Composto ^a	IR ^b	IR ^c	Folhas	Caule	Flor.
%±DP			0,05±0,02	0,03±0,01	0,02±0,01
[α] _D ²⁶ (c.=1,CH ₂ Cl ₂)			-25,8°	-24,6°	-7,1°
Santolina Trieno	910	906	-	-	0,2±0,0
Triciclono	917	921	-	-	0,2±0,0
α-pineno	930	932	0,1±0,0	-	-
Sabineno	966	969	-	0,9±0,0	-
β-pineno	968	972	0,8±0,0	-	-
Sabineno	963	969	-	-	0,1±0,0
p-cimeno	1015	1020	0,8±0,0	-	1,9±0,1
Z-β-Ocimeno	1036	1032	-	-	0,9±0,0
E-β-ocimeno	1040	1044	-	0,2±0,0	-
γ-terpineno	1054	1054	0,5±0,0		1,0±0,1
Terpinoleno	1089	1086	3,3±0,2	2,5±0,2	-
Linalol	1097	1095	-	-	5,4±0,2
Terpinen-4-ol	1178	1174	-	-	0,4±0,0
p-cimen-8-ol	1178	1179	0,1±0,0	-	-
α-terpineol	1185	1186	0,1±0,0	2,2±0,1	-
E-anetol	1278	1282	2,5±0,1	-	-
Acetato de δ-Terpinila	1318	1316	-	0,3±0,0	-
δ-elemeno	1339	1335	0,2±0,0	0,1±0,0	-
α-cubebeno	1343	1345	0,1±0,0	-	-

Ciclosativeno	1365	1369	0,4±0,0	0,3±0,0	-
α -ilangno	1369	1373	-	2,0±0,1	-
α -copaeno	1372	1374	2,6±0,1	0,1±0,0	3,9±0,2
β -bourboneno	1387	1387	1,6±0,0	-	-
β -elemeno	1384	1389	0,1±0,0	1,0±0,2	0,2±0,0
Cipereno	1393	1398	-	0,4±0,0	-
β -Cariofileno	1413	1417	33,5±0,7	20,9±0,6	41,2±1,0
β -duprezianano	1418	1421	0,5±0,0	1,1±0,2	-
γ -Elemeno	1429	1434	0,9±0,0	3,4±0,1	-
Aromadendreno	1439	1443	6,6±0,4	-	-
<i>Cis</i> -Prenil limoneno	1440	1443	-	3,3±0,1	-
<i>Cis</i> -Muuroala-3,5-dieno	1443	1448	-	0,4±0,0	-
α -humuleno	1451	1452	2,6±0,4	-	10,7±0,6
<i>Allo</i> -aromadendreno	1453	1458		0,2±0,0	-
<i>Cis</i> -Cadina-1(6),4-dieno	1458	1461	-	0,2±0,0	-
9- <i>epi</i> - <i>E</i> -cariofileno	1459	1464	-	1,8±0,2	-
γ -Muuroleno	1476	1478	6,4±0,5	11,0±0,5	4,2±0,5
γ -himachaleno	1480	1481	-	1,0±0,1	-
Germacreno D	1479	1484	0,5±0,0	3,4±0,1	11,4±0,9
Aristolocheno	1484	1487	-	1,3±0,3	-
β -selineno	1485	1489	0,7±0,0	0,9±0,0	-
<i>Cis</i> - β -guaiano	1488	1492	-	0,4±0,0	-
<i>Epi</i> -cubenol	1491	1493	-	0,2±0,0	-

Bicyclogermacreno	1503	1500	-	-	0,5±0,0
γ-amorfeno	1490	1495	0,5±0,0	1,4±0,0	-
Valenceno	1495	1496	2,4±0,0	8,6±0,3	-
α-muuroleno	1498	1500	0,4±0,0	-	0,3±0,0
Epizorano	1498	1501	-	0,1±0,0	-
γ-patuchouleno	1507	1502	-	0,2±0,0	-
Trans-β-guaieno	1507	1502	-	0,3±0,0	-
γ-cadineno	1510	1513	0,2±0,0	-	0,2±0,0
α-dehidro-ar-himachaleno	1515	1516	-	0,3±0,0	-
7-epi-α-selineno	1517	1520	0,4±0,0	-	-
Trans-calameneno	1520	1521	0,1±0,0	-	-
δ-Cadineno	1525	1522	-	-	4,6±0,3
α-cadineno	1540	1537	1,1±0,1	1,3±0,2	-
Espatulanol	1572	1577	-	1,1±0,1	0,4±0,0
Oxido de Cariofileno	1579	1582	16,2±0,4	3,1±0,3	5,1±0,5
Globulol	1585	1590	3,8±0,4	0,5±0,0	-
Viridiflorol	1591	1592	2,0±0,2	3,7±0,2	-
Carotol	1596	1594	-	-	0,7±0,0
Guaiol	1598	1600	0,4±0,0	0,9±0,0	-
β-atlantol	1603	1608	-	0,5±0,0	-
Epoxido de Humuleno II	1611	1608	1,3±0,1	-	0,9±0,0
1,10-di-epi-cubenol	1615	1618	1,0±0,1	4,0±0,0	-
10-epi-γ-eudesmol	1617	1622	0,5±0,0	1,2±0,0	-
1-epi-cubenol	1623	1627	-	1,0±0,0	0,5±0,0
Epi-α-muurolol	1640	1640	2,7±0,4	-	1,1±0,2

α -muurolol	1636	1644	-	4,2 \pm 0,5	0,5 \pm 0,1
β -eudesmol	1645	1649	-	2,5 \pm 0,0	-
Himachalol	1646	1647	-	0,4 \pm 0,0	-
α -cadinol	1650	1652	0,4 \pm 0,0	-	1,8 \pm 0,3
α -eudesmol	1648	1652	-	0,7 \pm 0,0	-
Selin-11-em-4- α -ol	1663	1658	-	0,3 \pm 0,0	-
14-hidroxi- β -cariofileno	1670	1666	0,3 \pm 0,0	-	-
Khusinol	1680	1679	-	-	0,7 \pm 0,1
Docosano	2202	2200	-	1,4 \pm 0,2	-
Total			98,8 \pm 1,3	96,9 \pm 1,1	99,2 \pm 1,5
Monoterpenos			5,6 \pm 0,2	3,5 \pm 0,2	4,3 \pm 0,2
Monoterpenos oxigenados			2,7 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	5,8 \pm 0,4
Sesquiterpenos			60,4 \pm 1,0	65,5 \pm 0,9	77,4 \pm 1,3
Sesquiterpenos oxigenados			30,2 \pm 0,9	24,2 \pm 0,3	11,6 \pm 0,4
Hidrocarboneto			-	1,4 \pm 0,2	-

^aCompostos listados de acordo com a eluição em coluna não polar DB-5,
^bÍndices de retenção calculados baseados nos tempos de retenção em
comparação com a uma série de *n*-alcanos em coluna de capilaridade de 30m
DB-5 ^cÍndices de retenção da literatura.

O óleo essencial extraído das folhas, caule e flores de *C. sellowii* foram caracterizado pela presença majoritária de compostos da classe química dos sesquiterpenos (60,4 \pm 1,0%, 65,5 \pm 0,9% e 77,4 \pm 1,3%, respectivamente) e sesquiterpenos oxigenados (30,2 \pm 0,9%, 24,2 \pm 0,3% e 11,6 \pm 0,4, respectivamente).

O componente principal encontrado no óleo das folhas foi o β -cariofileno (33,5 \pm 0,7%), seguido de óxido de cariofileno (16,2 \pm 0,4), aromadendreno (6,6 \pm 0,4%) e γ -muuroleno (6,4 \pm 0,5) (Figura 16).

Quanto ao perfil químico encontrado para o óleo essencial do caule, β -cariofileno (20,9 \pm 0,6%), γ -muuroleno (11,0 \pm 0,5%) e valeceno (8,6 \pm 0,3) foram identificados como os constituintes principais para o óleo em nossa análise (Figura 16).

O óleo essencial das flores apresentou como principais constituintes β -cariofileno (41,2 \pm 1,0%), germacreno D (11,4 \pm 0,9%), α -humuleno (10,7 \pm 0,6%), linalol (5,4 \pm 0,2%), e óxido de cariofileno (5,1 \pm 0,5%) (Figura 16).

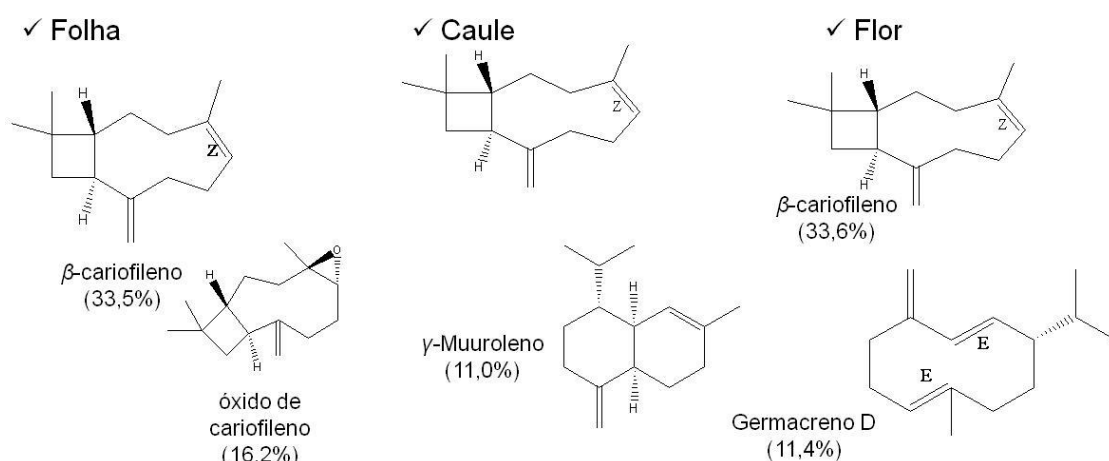


FIGURA 16: Componentes majoritários do *Croton sellowii*.

Esse é o primeiro relato da composição química do óleo essencial para o caule e flores do *C. sellowii*.

Por outro lado, o trabalho prévio realizado com óleo essencial das folhas de *C. sellowii* (DIAS *et al*, 2006) relata a presença dos mesmos compostos encontrados para o óleo essencial das folhas de *C. sellowii* objeto de nosso estudo. Porém o percentual relativo relatado para os compostos diferem dos da nossa análise, com o óxido de cariofileno apresentando o maior percentual

43,8% e o β -cariofileno, aromadendreno e γ -muuroлено apresentado apenas 4,9; 0,2 e 2,3%, respectivamente. A composição do óleo essencial de uma dada espécie é influenciada por diversos fatores, como variações fisiológicas, condições ambientais, local de coleta, técnica de obtenção, etc (FIGUEIREDO et al, 2008). Considerando que ambas as amostras foram obtidas do mesmo grupo de plantas, de uma única localidade e sob as mesmas condições, resta considerar o ciclo de vida da planta e as condições climáticas, considerando que nossa coleta foi feita no verão e a da literatura no inverno (DIAS et al, 2006).

A Figura 17 mostra os resultados da ação fumigante e a redução na quantidade de ovos após 24h de exposição do ácaro rajado às diferentes concentrações dos óleos, de seus constituintes majoritários e do controle positivo (Eugenol).

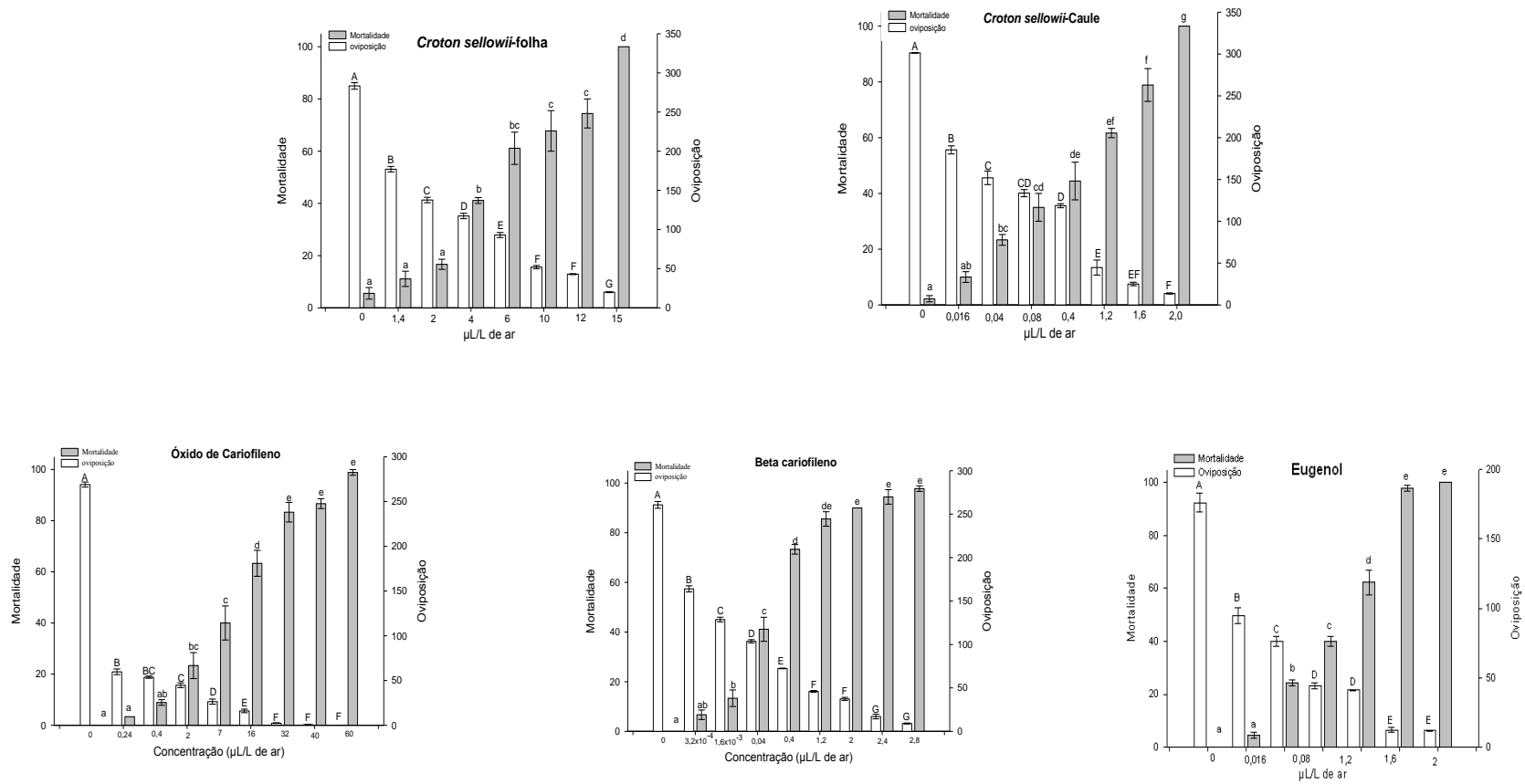


Figura 17: Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos de adultos fêmeas de *Tetranychus urticae* em diferentes concentrações dos óleos essenciais de folha e caule do *Croton sellowii*, de seus constituintes e do controle positivo (Eugenol). Gráfico de barras por espécie e compostos, barras seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si. ($p = 0.05$, Tukey test).

Com base nas concentrações testadas para os óleos, à menor que promoveu uma mortalidade de 98,9% foi de 14 $\mu\text{L/L}$ de ar para o óleo essencial das folhas, enquanto que o caule necessitou de 1,8 $\mu\text{L/L}$ de ar para promover uma mortalidade de 98,9%.

A análise de regressão linear (Figura 18) para obtenção das CL_{50} estimadas para os óleos foi calculada e é mostrado na tabela 11, o óleo essencial do caule de *C. sellowii* (0,38 $\mu\text{L/L}$ de ar) foi mais tóxico quando comparado com o óleo essencial das folhas do *Croton sellowii* (5,84 $\mu\text{L/L}$ de ar). O coeficiente angular (Tabela 11, Figura 18) para o óleo essencial da folha (2,2) foi maior que o do caule (0,9). Valor maior do coeficiente angular da curva de concentração-mortalidade, observado para o óleo das folhas indica um elevado grau de sensibilidade e correlação entre a mortalidade e a concentração do produto.

Tabela 11: Ação fumigante dos óleos essenciais das folhas e caule do *Croton sellowii* e de seus constituintes contra fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Espécie e/ou constituente	Parte	N	Equação (I.C. 95%)	CL ₅₀ (µL/L ar) (I.C. 95%)	χ ²	RT
<i>Croton sellowii</i>	Folha	540	Y=3,3+2,2logx (1,9-2,4)	5,84 (5,01-6,79)a	3,86	1651,7
<i>Croton sellowii</i>	Caule	540	Y=5,4+0,9logx (0,8-1,0)	0,38 (0,18-0,87)b	8,47	107,8
Óxido de cariofileno		720	Y=4,0+1,4logx (1,3-1,5)	5,80 (4,10-8,00)a	10,5	1663,4
β-cariofileno		720	Y=5,1+0,8logx (0,3-1,1)	0,05 (0,02-0,08)c	9,12	12,8
Eugenol		540	Y=7,1+0,8logx (0,7-0,9)	4,0x10 ⁻³ (2x10 ⁻³ -5x10 ⁻³)d	1,52	-

n = número de ácaros/dose; I.C.= Intervalo de confiança; RT = razão de toxicidade; χ² chi-quadrado; Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si (p = 0.05, teste Tukey).

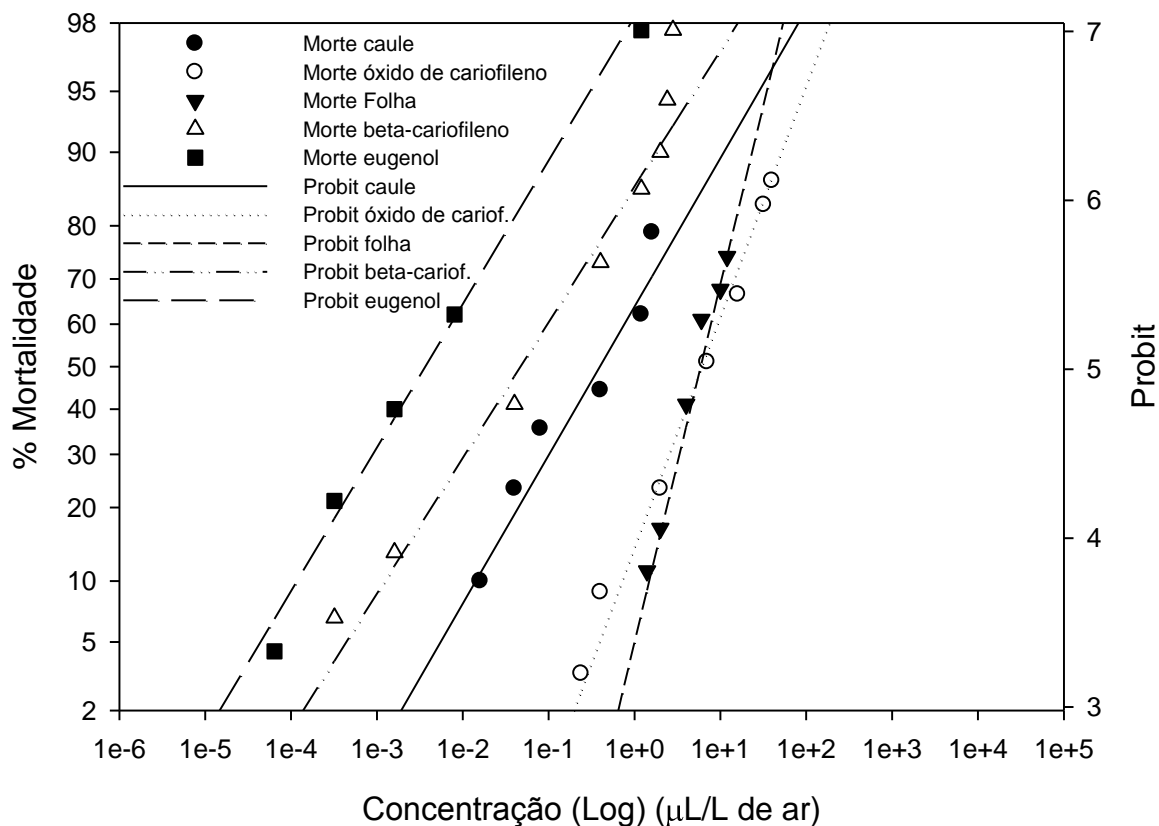


Figura 18. Curva de concentração-mortalidade para fêmeas de *T. urticae* submetidas à fumigação com óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* e aos compostos β -cariofileno e óxido de cariofileno e controle positivo (eugenol).

Para observar qual o constituinte seria responsável pela toxicidade dos óleos contra o ácaro rajado, foi realizado o experimento de fumigação para o β -cariofileno e óxido de cariofileno (Compostos majoritários), foi realizado também com o controle positivo (Eugenol).

Avaliando-se os constituintes isolados nas mesmas concentrações dos óleos essenciais testados (1,8 e 14,0 $\mu\text{L/L}$ de ar, caule e folha respectivamente) que causou a mortalidade de $98,9 \pm 1,0\%$ para ambos, observo-se que todos foram ativos contra o ácaro rajado, o eugenol em ambas as concentrações e o β -cariofileno na concentração de 14,0 $\mu\text{L/L}$ de ar provocaram $100 \pm 0,0\%$ de

mortalidade, porém não diferem estatisticamente dos óleos essenciais, o β -cariofileno na concentração de 1,8 $\mu\text{L/L}$ de ar provocou $94,44 \pm 2,46\%$ de mortalidade e também não diferiu estatisticamente do óleo essencial do caule de *C. sellowii*, enquanto que o óxido de cariofileno causou $23,33 \pm 1,43\%$ de mortalidade na concentração de 1,8 $\mu\text{L/L}$ de ar e $63,33 \pm 2,0\%$ na concentração de 14,0 $\mu\text{L/L}$ de ar.

Analisando a menor concentração de todos os constituintes que provocou uma mortalidade acima de 95%, o β -cariofileno foi o constituinte mais tóxico provocando uma mortalidade de 97,78% com uma concentração de 2,8 $\mu\text{L/L}$ de ar e o óxido de cariofileno para ter uma mortalidade de 98,89% necessitou de 60,0 $\mu\text{L/L}$ de ar. Esses dados levam a sugerir que o composto majoritário que contribui para o aumento da toxicidade do óleo essencial das folhas é o β -cariofileno, enquanto que provavelmente o óxido de cariofileno contribui para diminuir essa toxicidade. Contudo, no óleo essencial do caule, o óxido de cariofileno por está em menor quantidade não interfere na toxicidade ficando ao β -cariofileno a maior contribuição.

O controle positivo (Eugenol) demonstrou uma maior toxicidade que os óleos essenciais e seus constituintes provocando uma mortalidade de 97,78% a uma concentração de 1,2 $\mu\text{L/L}$ de ar.

A análise de regressão linear (Figura 18) para obtenção das CL_{50} estimadas para os constituintes e o controle positivo (Eugenol) foi calculada e é mostrado na tabela 11.

O controle positivo foi mais tóxico ($4,0 \times 10^{-3}$ $\mu\text{L/L}$ de ar), seguido do β -cariofileno (0,05 $\mu\text{L/L}$ de ar), óleo essencial do caule de *C. sellowii* (0,38 $\mu\text{L/L}$ de ar), óxido de cariofileno (5,80 $\mu\text{L/L}$ de ar) e as folhas do *Croton sellowii* (5,84

$\mu\text{L/L}$ de ar). Ou seja, de acordo com as razões de toxicidades calculadas, o eugenol foi 107,8; 1651,7; 12,8 e 1663,4 vezes mais tóxico do que o óleo essencial do caule e das folhas de *C. sellowii*, o β -cariofileno e óxido de cariofileno, respectivamente. As CL_{50} estimadas para o óleo do caule e os constituintes diferiram estatisticamente entre si, exceto o óleo das folhas e o óxido de cariofileno que não diferiram estatisticamente.

Tal fato pode ser explicado com base nos coeficientes angulares mostrados na Tabela 11 e na Figura 18, que mostram as curvas de concentração-mortalidade para os ácaros submetidos aos óleos essenciais das folhas e caule de *Croton sellowii* e ao β -cariofileno e óxido de cariofileno e ao controle positivo (eugenol). Embora os resultados mostrem que o eugenol, o β -cariofileno e o óleo do caule sejam mais tóxicos que o óleo da folha e o óxido de cariofileno, o β -cariofileno (0,8), o eugenol (0,8), assim como o óleo essencial do caule (0,9) apresentaram menor coeficiente angular do que o óxido de cariofileno (1,8) e o óleo essencial das folhas (2,2). Esse dado mostra que o intervalo das concentrações usadas para o eugenol, o β -cariofileno e o óleo essencial do caule foi maior (Figura 18, Tabela 11). Valor maior do coeficiente angular da curva de concentração-mortalidade, observado para o óleo das folhas e o óxido de cariofileno indica um elevado grau de sensibilidade e correlação entre a mortalidade e a concentração do produto.

No mesmo experimento em que foi avaliada a ação fumigante dos óleos, também foi verificada a redução da quantidade de ovos postos pelos ácaros. A habilidade de reduzir a quantidade de ovos postos pelos ácaros, quando submetidos aos vapores dos óleos essenciais tem sido já reportada (Pontes *et al.* 2007b,c). Os dados apresentados na Figura 17 mostram que os óleos de

folhas e caule de *C. sellowii* e de seus constituintes, bem como o controle positivo (eugenol) promoveram redução de ovos quando comparados com o controle. Essa comparação dos dados de diminuição da quantidade de ovos dos óleos e dos constituintes testados com o controle mostra que o melhor resultado foi para o óxido de cariofileno, que promoveu uma redução de 77,82% de ovos na concentração de 0,24 $\mu\text{L/L}$ de ar, seguido do eugenol (46,21% em $6,4 \times 10^{-5}$); óleo essencial do caule do *Croton sellowii* (38,49% em 0,016 $\mu\text{L/L}$ de ar); óleo essencial das folhas do *C. sellowii* (37,52% em 1,4 $\mu\text{L/L}$ de ar) e o β -cariofileno (37,08% em $3,2 \times 10^{-4}$ $\mu\text{L/L}$ de ar).

Observando o resultado tanto de mortalidade, assim como o de redução de ovos podemos observar que o β -cariofileno foi mais tóxico que os outros componentes sendo este o provável responsável pela toxicidade do óleo essencial, já o óxido de cariofileno reduziu bastante a quantidade de ovos em sua menor concentração testada, podendo está relacionado a ele o potencial de reduzir a quantidade de ovos para óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii*.

Devido à natureza desses bioensaios, os resultados obtidos mostram que esses óleos e seus constituintes são tóxicos ao ácaro através da penetração dos vapores pelas vias respiratórias. De fato, a ação fumigante desses óleos essenciais pode ser justificada pelas substâncias mais voláteis, que atuam nos ácaro por meio da respiração. Mas, será que só esses componentes são os únicos responsáveis pela toxicidade de um óleo essencial? Nesse caso é pertinente questionar se o tipo de bioensaio para avaliar a ação desses óleos sobre o ácaro rajado pode influenciar na susceptibilidade dessa praga. Sendo assim, objetivando investigar a ação dos

componentes menos voláteis nos óleos previamente investigados, decidiu-se realizar novos experimentos para avaliar a ação desses óleos essenciais usando um método que possibilite o contato desses constituintes com menor volatilidade com o ácaro rajado. A metodologia escolhida foi a de contato em superfície foliar contaminada, com placas fechadas.

A Figura 19 e a Tabela 12 mostram os resultados para o óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* e de seus constituintes, assim como do controle positivo (Eugenol) na toxicidade de contato, com placas fechadas e a redução de quantidade de ovos.

Nos experimentos com placas fechadas o óleo do caule foi o mais tóxico com uma concentração de 3,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ onde promoveu uma mortalidade de 96%, enquanto que o óleo essencial das folhas para ter uma mortalidade de 96% foi necessário uma concentração de 45,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$. De acordo com as CL_{50} estimadas o óleo essencial do caule (0,53 $\mu\text{L}/\text{mL}$) foi mais tóxico que o óleo essencial das folhas (5,94 $\mu\text{L}/\text{mL}$).

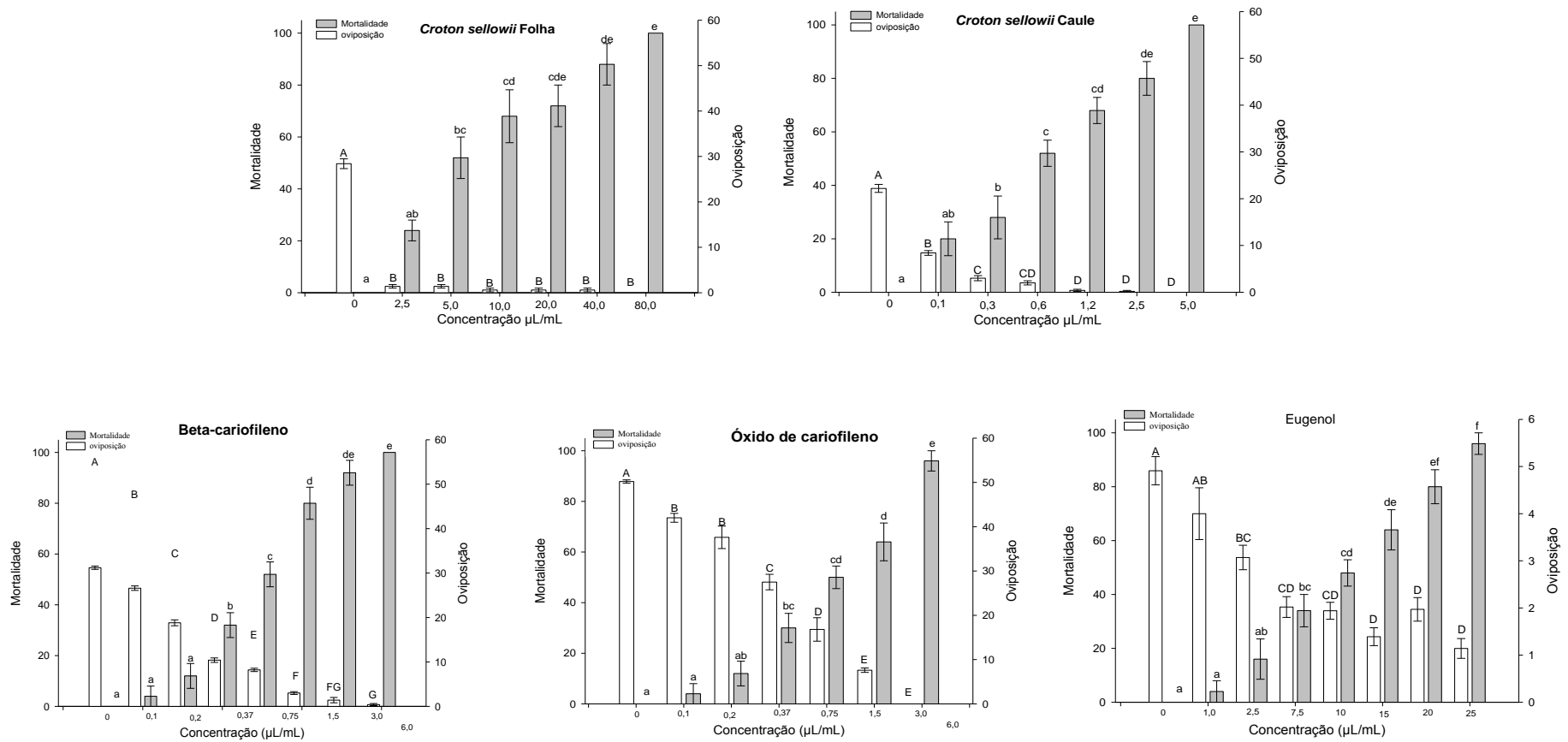


Figura 19: Atividade de contato com placas fechadas do óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii*, dos constituintes e do controle positivo (Eugenol) sobre fêmeas adultas de *T. urticae*. Barras seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os constituintes majoritários foram testados na mesma concentração que o óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* (45,0 e 3,0 $\mu\text{L/mL}$, respectivamente); Nesta concentração o β -cariofileno provocou 92 e 100% de mortalidade, respectivamente, enquanto que o óxido de cariofileno promoveu 48% e 80% de mortalidade, respectivamente.

A concentração do óleo essencial do caule de *C. sellowii* foi cerca de 1,2; 11 e 16 vezes menor do que as concentrações do β -cariofileno, óxido de cariofileno e o óleo essencial das folhas de *C. sellowii* para promover mortalidade acima de 90%.

As CL_{50} estimadas para o óxido de cariofileno (8,71 $\mu\text{L/mL}$) e o eugenol (8,74 $\mu\text{L/mL}$) não diferiram estatisticamente entre si, contudo diferiram do β -cariofileno (0,64 $\mu\text{L/mL}$). O eugenol (slope=2,1), o óxido de cariofileno (slope = 2,2) e o β -cariofileno (2,2) apresentaram valores de coeficientes angulares das curvas de concentração mortalidade maiores quando comparado com o óleo essencial das folhas (1,6) e caule (1,5), isso indica uma elevada correlação entre a mortalidade e a concentração do eugenol, do óxido de cariofileno e do β -cariofileno, sugerindo uma maior homogeneidade da resposta na mortalidade da população dos ácaros (Tabela 12, Figura 20).

Tabela 12: Toxicidade de contato do óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* e dos constituintes β -cariofileno e Óxido de cariofileno e do controle positivo (eugenol) sobre fêmeas adultas de *T. urticae*.

Espécie e/ou constituinte	N	Equação (I.C. 95%)	CL ₅₀ (μ L/L ar) (I.C. 95%)	χ^2	RT
<i>Croton sellowii</i> Folha	150	Y=3,8+1,6logx (1,3-1,9)	5,94 (3,73-8,35)a	2,92	11,15
<i>Croton sellowii</i> Caule	150	Y=5,4+1,5logx (1,3-1,7)	0,53 (0,36-0,75)b	3,90	-
Óxido de cariofileno	125	Y=2,9+2,2logx (1,8-2,6)	8,71 (6,65-11,65)a	0,69	16,36
β -cariofileno	175	Y=5,4+2,2logx (1,9-2,5)	0,65 (0,50-0,83)b	0,72	1,21
Eugenol	174	Y=2,9+2,1logx (1,8-2,4)	8,74 (6,02-12,18)a	5,6	16,41

n = número de ácaros/dose; I.C.= Intervalo de confiança; RT = razão de toxicidade, calculada pelo método de Robertson & Preisler. *Significativo quando não apresenta o valor 1. Linhas seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente. P=0,05; χ^2 chi-quadrado;

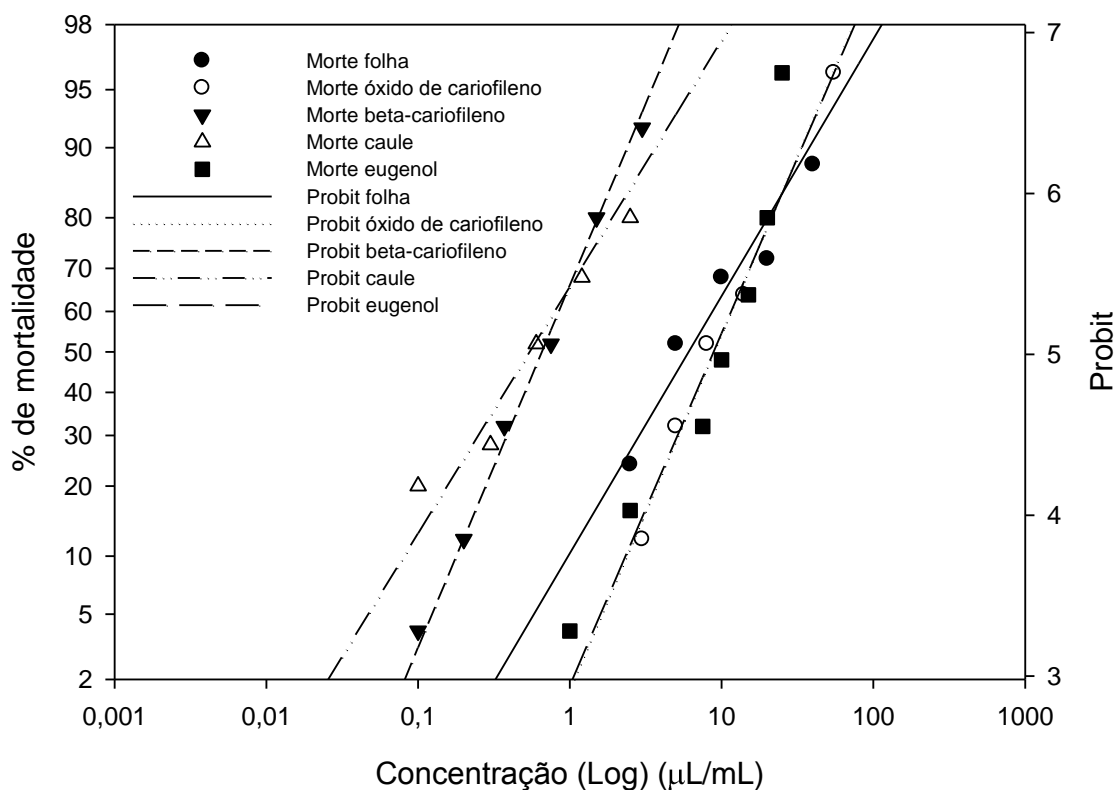


Figura 20: Curva concentração-mortalidade para fêmeas de *T. urticae* submetidas à contato com o óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii*, β -cariofileno, óxido de cariofileno e eugenol.

Tanto o óleo como os constituintes majoritários testados promoveram significativamente a redução de ovos quando comparados com o controle (Figura 19, Tabela 12). As menores concentrações dos óleos e dos constituintes utilizadas para reduzir significativamente a quantidade de ovos nos experimentos de contato com placa fechada foram: óleo essencial das folhas (2,5 µL/mL e 95,1% de redução), óleo essencial do caule (0,1 µL/mL e 62,2% de redução), óxido de cariofileno (1,5 µL/mL e 16,3% de redução), o β cariofileno (0,1 µL/mL e 14,7% de redução) e o eugenol (1,0 µL/mL e 18,53% de redução).

Esses resultados mostram que nos experimentos de fumigação, os ácaros foram mais susceptíveis aos óleos de folhas e caule de *Croton sellowii* e aos constituintes do que nos bioensaios de contato com placas fechadas. Comparando as toxicidades dos óleos de folha e caule de *C. sellowii* nos bioensaios de fumigação com os de contato com placas fechadas, foi 1017 e 1394 vezes mais tóxico ao ácaro do que no teste de contato, respectivamente; o constituinte óxido de cariofileno foi 1500 vezes mais tóxico. O eugenol foi extremamente mais eficiente, sendo 2.185.000 mais tóxico, seguido do β -cariofileno, 14 mil vezes mais tóxico pelo método de fumigação.

Os resultados obtidos para ambos os métodos para avaliar a toxicidade de óleos essenciais e seus constituintes sobre o ácaro rajado, corroboram a premissa de que o tipo de bioensaio pode influenciar na susceptibilidade dos ácaros. Fatores como modo de ação dos óleos (pelos vapores ou por contato e ingestão) e/ou meios de aplicação destes óleos nos distintos métodos podem levar a diferentes susceptibilidades dos ácaros a estes óleos.

Provavelmente, nos testes de contato realizados com os óleos de folhas e caule de *C. sellowii* e seus constituintes, perdas significativas dos componentes mais voláteis do óleo ou dos próprios constituintes podem ter ocorrido por evaporação, devido ao fato de que a aplicação do óleo no bioensaio de fumigação é feita diretamente no papel de filtro e logo em seguida a câmara de fumigação é fechada. Nos testes de contato, a placa de Petri usada como arena só é fechada após a secagem (20min) das soluções contendo o óleo, previamente preparadas, e após a transferência dos ácaros.

Essas diferenças metodológicas principalmente aquelas relacionadas com a forma de aplicação dos óleos, justificam em parte a grande diferença

observada na susceptibilidade dos ácaros quando submetidos aos óleos de folha e caule de *C. sellowii* por meio de bioensaios de fumigação e de contato.

Todos os bioensaios realizados até o momento têm demonstrado que os óleos de *Croton sellowii* têm sido tóxicos através da ação dos vapores (por fumigação) e por meio de seu contato com os tarsos e/ou pela ingestão do alimento. Mas será que esses óleos também atuam no comportamento dessa praga? Nesse sentido, experimentos de repelência e de preferência de oviposição e alimentar foram realizados com o óleo foliar de *C. sellowii* e de seus constituintes majoritários (β -cariofileno e óxido de cariofileno) sobre o ácaro rajado.

O experimento de repelência revelou que os óleos das folhas e caule de *C. sellowii* atuaram no comportamento do ácaro rajado, revelando-se fortemente repelente. Nas concentrações de 4,07 e 5,09 μ L/cm², os óleos e folha e caule, respectivamente, promoveu 100% de repelência.

A concentração média de repelência (CR₅₀) dos óleos das folhas e caule de *C. sellowii* é mostrada na Tabela 13. O óleo atuou no comportamento dos ácaros. O eugenol (slope=0,7) apresentou um valor menor de coeficiente angular que o óleo das folhas (0,8) e caule (1,2). As curvas de concentração repelência apresentaram uma relação concentração-dependente, uma vez que o aumento das concentrações provocou um aumento da repelência (Figura 21).

Tabela 13: Atividade repelente do óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* sobre fêmeas adultas de *T. urticae*.

Espécie	n	Equação	CR ₅₀ (μL/cm ²)	χ ²
		(I.C. 95%)	(I.C. 95%)	
<i>Croton sellowii</i> Folha	750	Y=6,5+0,8logx (0,73-0,81)	0,009 (0,002-0,029)	5,05
<i>Croton sellowii</i> Caule	1050	Y=6,6+1,2logx (1,18-1,32)	0,05 (0,03-0,08)	10,15
Eugenol	874	Y=6,0+0,4log (0,3-0,5)	0,002 (0,001-0,003)	1,88

n=número de ácaros/dose; I.C.=Intervalo de confiança; P=0,05; χ² chi-quadrado;

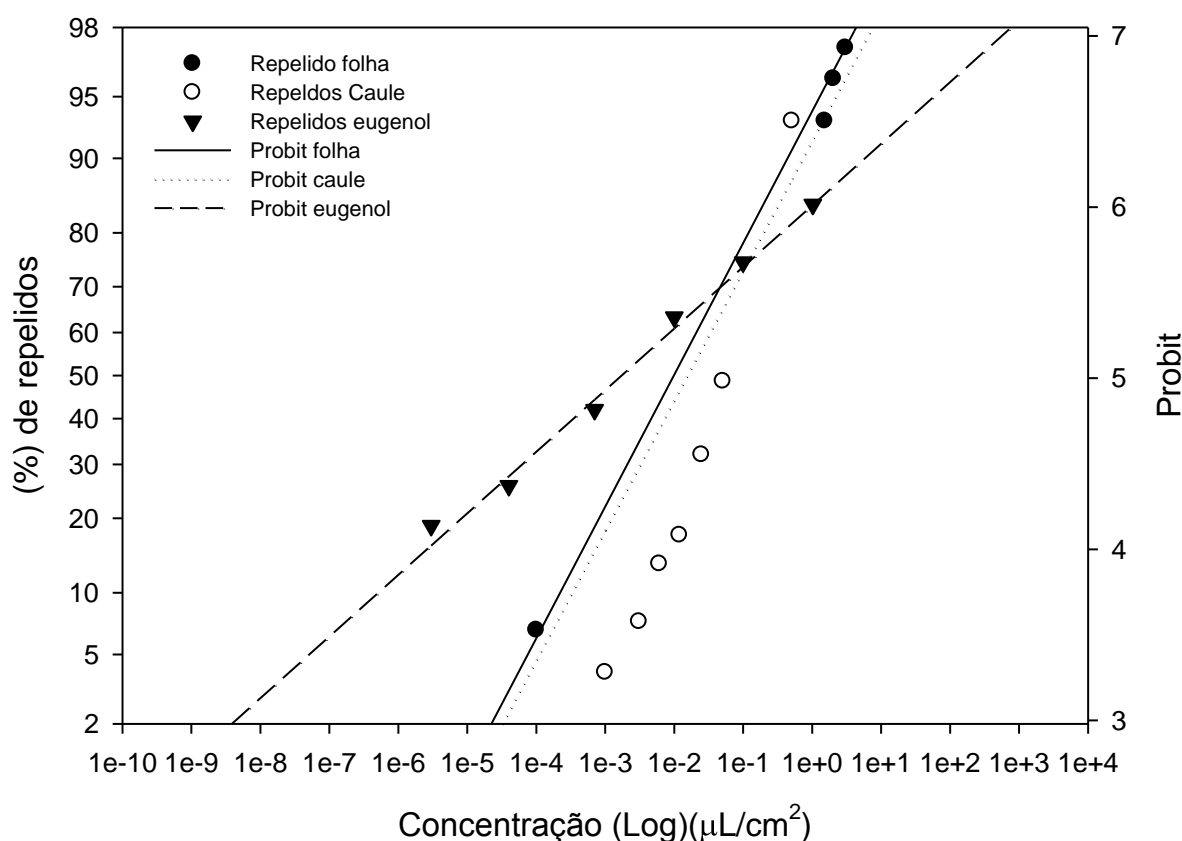


Figura 21: Curva de concentração-repelência para fêmeas de *T. urticae* submetidas ao óleo essencial de folhas e caule de *C. sellowii* e do eugenol.

De acordo com a concentração média de repelência (CR_{50}) estimada (0,009 e 0,05 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, folha e caule respectivamente), foi 4,5 e 25 vezes menos repelente do que o controle positivo, eugenol (Tabela 15).

Na figura 22 é mostrado o percentual de repelência para o óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* em comparação com os seus constituintes. Observa-se para as folhas que o óxido de cariofileno (% de repelência=70,0 \pm 3,6%) contribui mais para a repelência dos ácaros que o β -cariofileno (% de repelência=30,7 \pm 3,0%), ambos avaliados na maior concentração do óleo essencial das folhas testado que repeliu 100,0 \pm 0,0% dos ácaros (4,07 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$). Enquanto que para o óleo essencial do caule o óxido de cariofileno (% de repelência=73,33 \pm 2,1%) e o β -cariofileno (% de repelência=81,33 \pm 3,63%) contribuíram estatisticamente igual para a repelência do ácaro, ambos avaliados na maior concentração do óleo essencial do caule testado que repeliu 100,0 \pm 0,0% dos ácaros (5,09 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$).

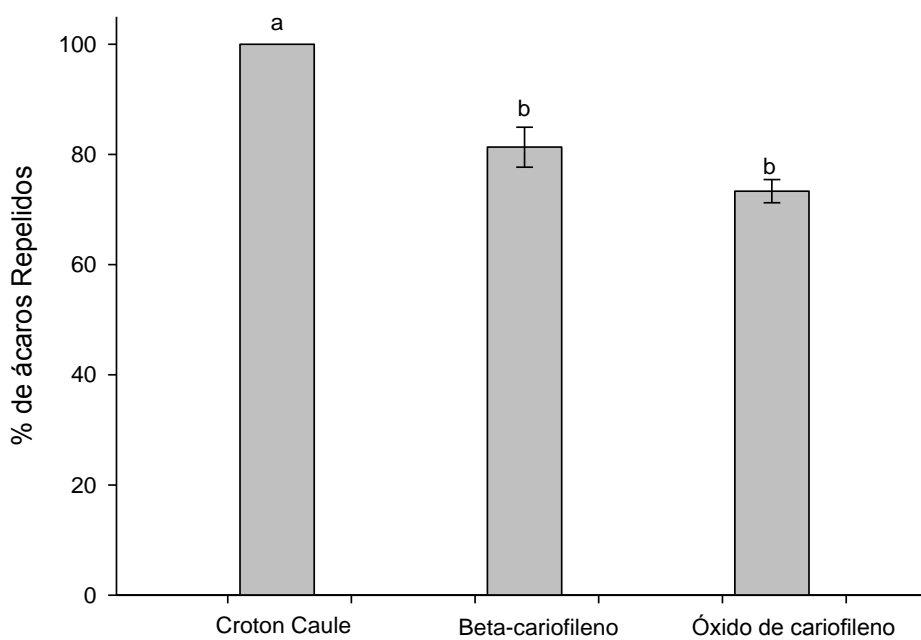
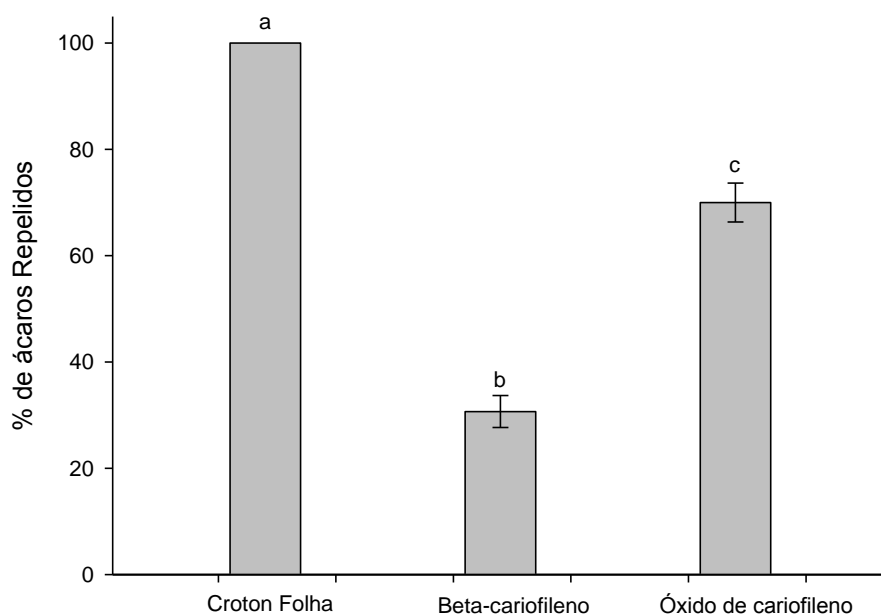


Figura 22: % de repelência dos óleos essenciais das folhas ($4,07 \mu\text{L}/\text{cm}^2$) e caule de *C. sellowii* ($5,09\mu\text{L}/\text{cm}^2$) e dos constituintes β -cariofileno e óxido de cariofileno nas mesmas concentrações.

Os resultados obtidos nos experimentos de repelência e preferência de oviposição para os óleos essenciais de folha e caule de *C. sellowii* dos constituintes β -cariofileno, óxido de cariofileno são mostrados na Figura 25. Nesse experimento avaliou-se para cada óleo a ação repelente e a preferência de oviposição dos ácaros nos intervalos de 1h, 12h, 24h e 48h.

Tanto o óleo essencial das folhas e caule de *C. sellowii* como os constituintes β -cariofileno e óxido de cariofileno interferiram na preferência dos ácaros para os discos controle nos testes de dupla escolha. A Tabela 14 mostra as médias de ácaros nos discos tratados e não tratados após 1h, 12h, 24h e 48h quando expostos aos óleos e aos constituintes.

O óleo essencial das folhas foi repelente até 12h e o do caule até 24h, isso pode ser justificado observando no cromatograma, pelo desaparecimento de alguns constituintes (Figura 23 e 24). O óxido de cariofileno foi repelente até 24h, entretanto o β -cariofileno permaneceu até 48h como repelente.

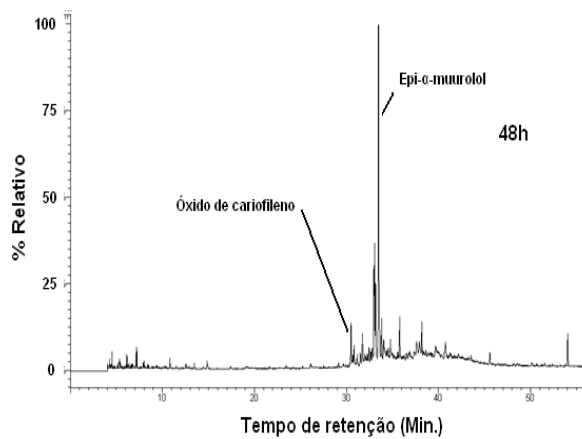
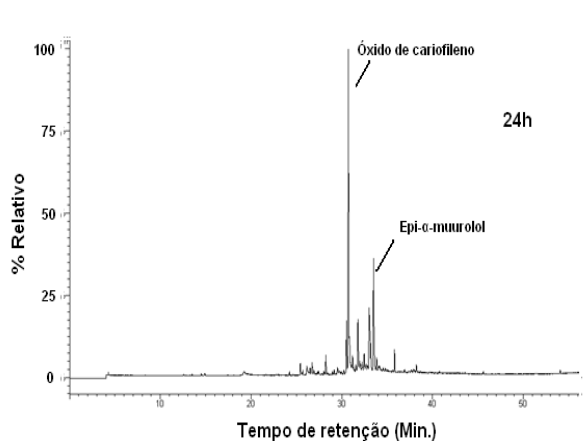
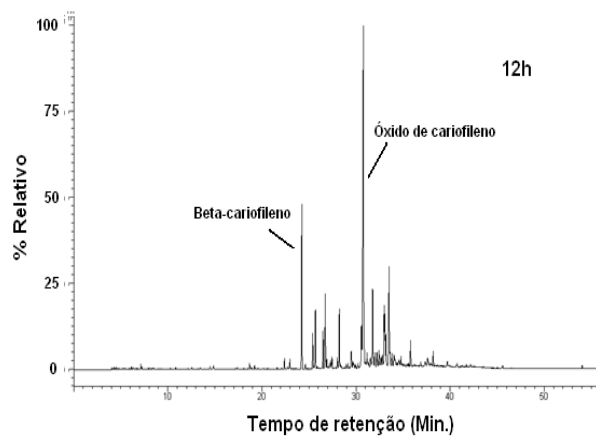
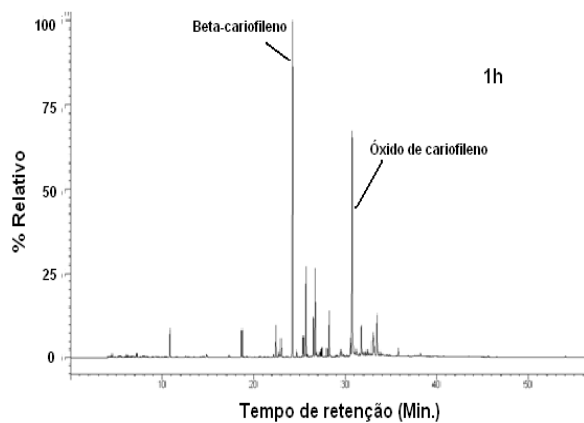
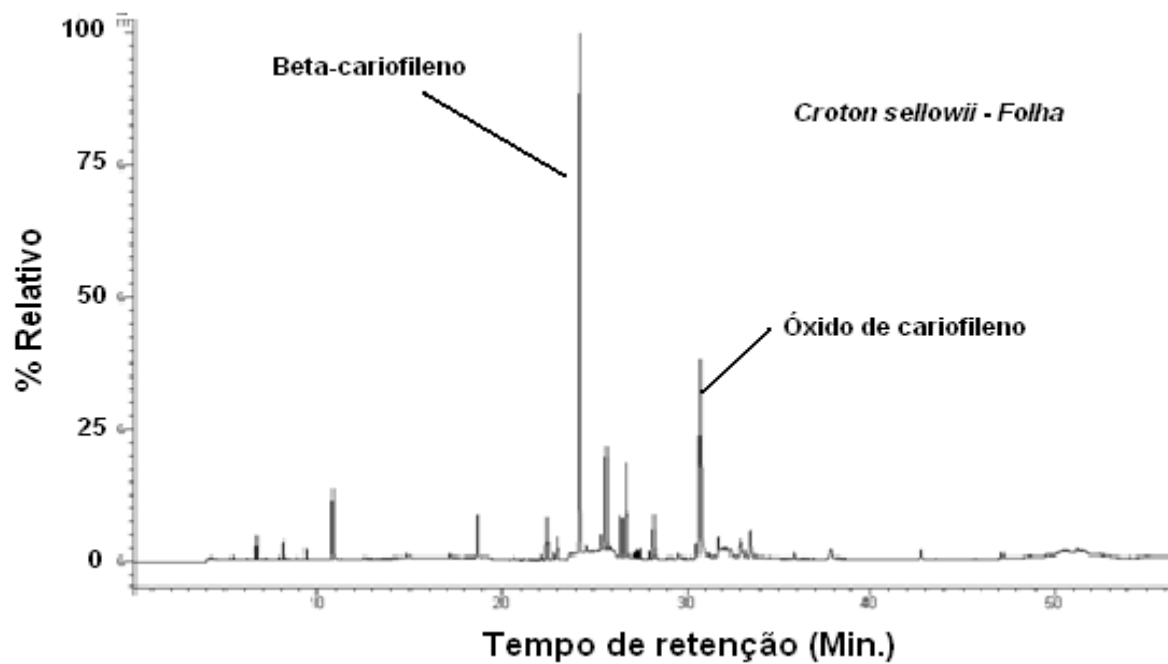


Figura 23. Cromatogramas do óleo essencial de *C. sellowii* folha com Zero, 1, 12, 24 e 48h de volatilidade.

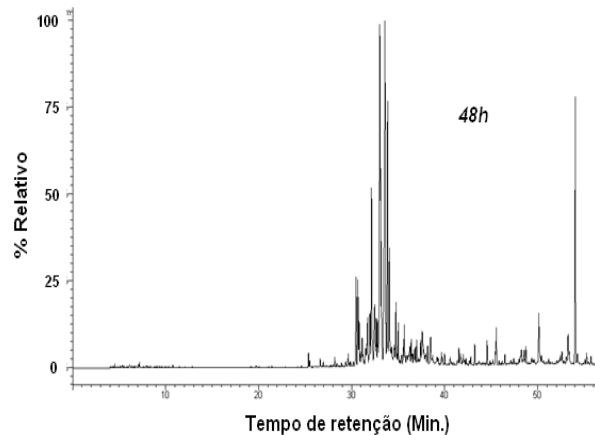
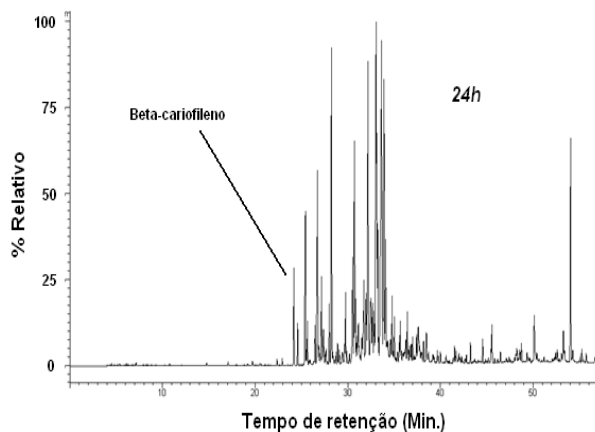
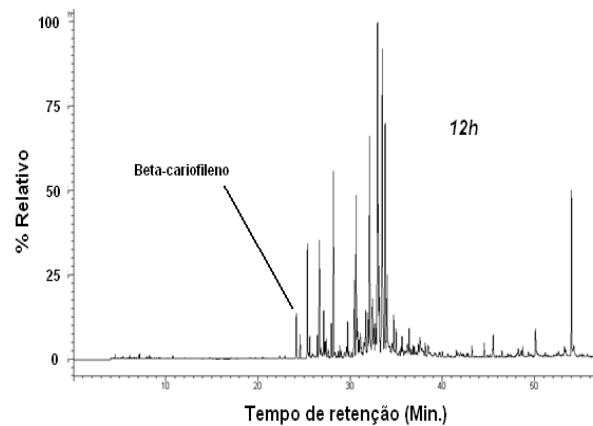
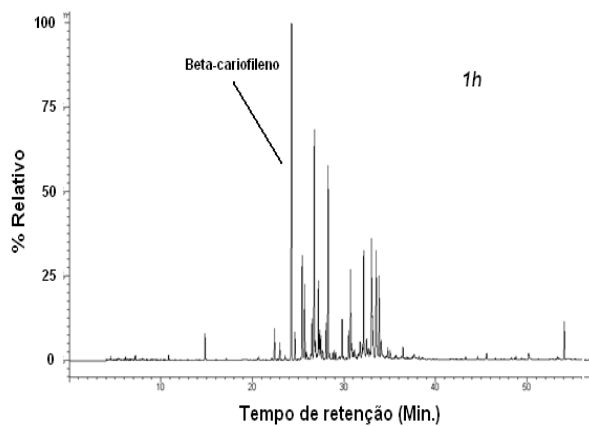
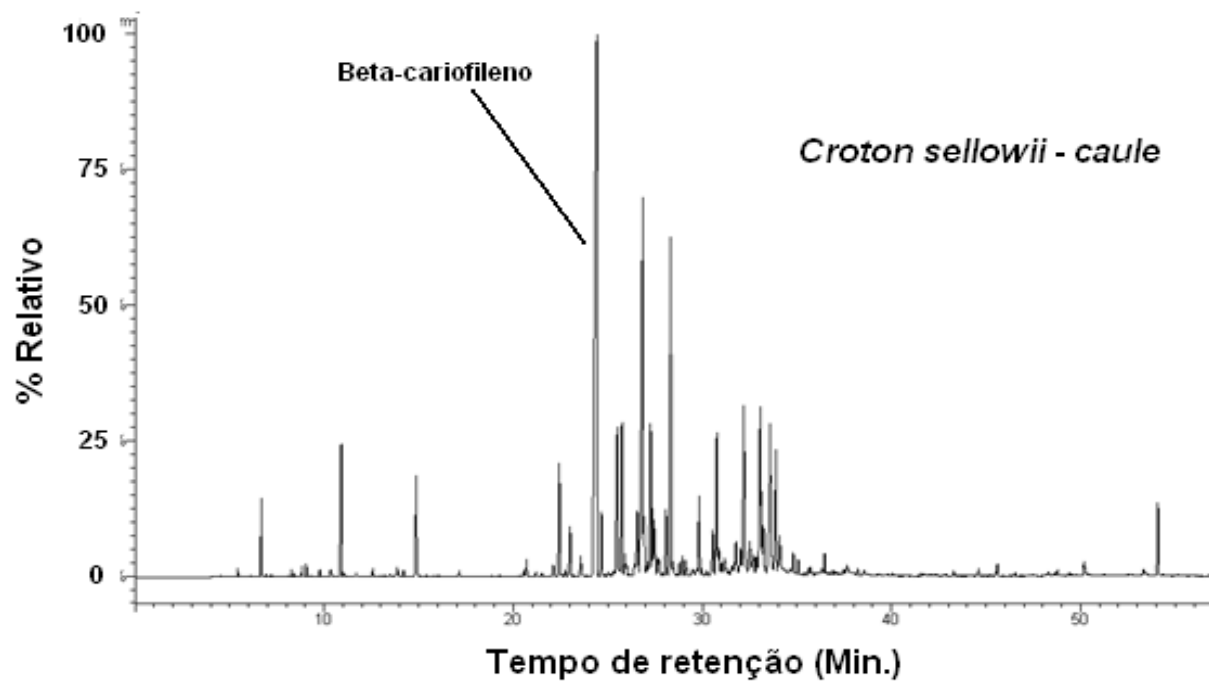


Figura 24: Cromatogramas do óleo essencial de *C. sellowii* caule com Zero, 1, 12, 24 e 48h de volatilidade.

Tabela 14. Valores médios do número de ácaros e de ovos de *T. urticae*, após 1, 12, 24 e 48h de exposição ao óleo essencial de folhas e caule de *Croton sellowii*, β -cariofileno e óxido de cariofileno.

Óleo/constituente	Nº de ácaros (média±EP)							
	1h		12h		24h		48h	
	C	T	C	T	C	T	C	T
<i>Croton</i> folha	28,5±0,47	1,5±0,47	20,3±1,28	9,7±1,28	14,1±0,54	15,9±0,54	5,2±0,94	24,8±0,94
<i>Croton</i> caule	26,7±1,04	3,3±1,04	20,7±0,86	9,3±0,86	16,2±1,05	13,8±1,05	13,4±0,94	16,6±0,94
β -cariofileno	26,7±0,79	3,3±0,79	18,1±1,22	11,9±1,22	17,8±1,01	12,2±1,01	15,2±1,57	14,8±1,57
Óxido de cariofileno	25,3±0,77	4,7±0,77	17,5±1,12	12,5±1,12	17,3±1,17	12,7±1,17	14,3±1,33	15,7±1,33

Óleo/constituente	Nº de ovos (média±EP)							
	1h		12h		24h		48h	
	C	T	C	T	C	T	C	T
<i>Croton</i> folha	4,5±0,74	0,0±0,0	23,3±0,97	2,5±1,07	35,3±0,98	5,8±1,05	66,1±0,55	16,0±1,69
<i>Croton</i> caule	1,7±0,7	1,2±0,6	10,4±0,84	7,1±1,00	72,4±0,56	9,1±1,04	102,3±0,90	11,1±1,08
β -cariofileno	4,4±0,98	1,5±0,50	43,4±0,71	6,9±0,59	83,9±1,58	25,3±1,06	92,3±1,55	35,6±0,73
Óxido de cariofileno	5,1±0,67	0,6±0,22	20,9±0,60	14,3±0,76	48,9±1,33	44,9±0,62	56,9±0,91	46,8±0,66

C = controle
T = Tratamento

Na Figura 25 pode ser visto que a ocorrência dos ácaros, mesmo em pequena quantidade, aumentou com o passar do tempo para os discos tratados com os óleos essenciais de folhas e caule de *C. sellowii*, β -cariofileno e óxido de cariofileno.

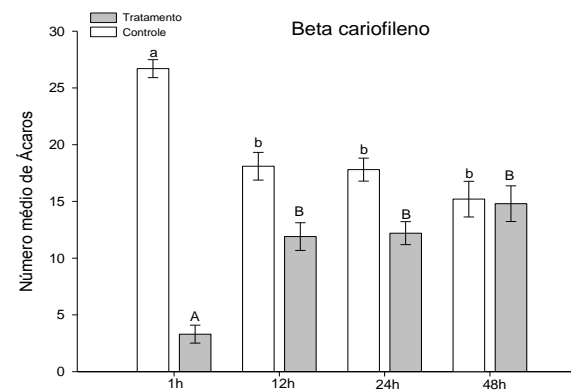
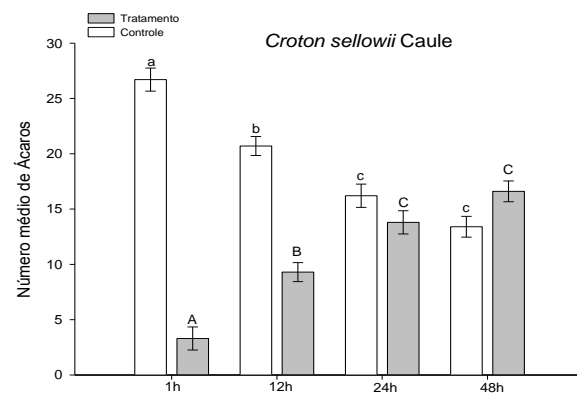
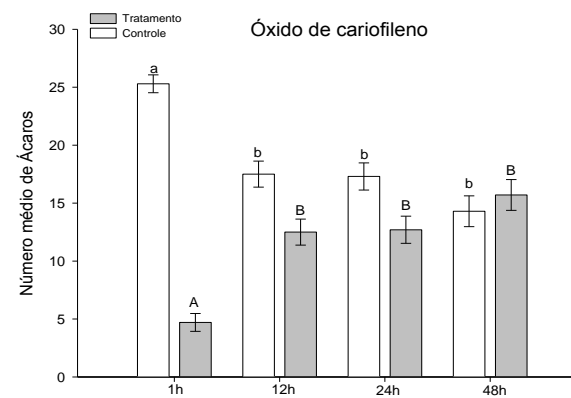
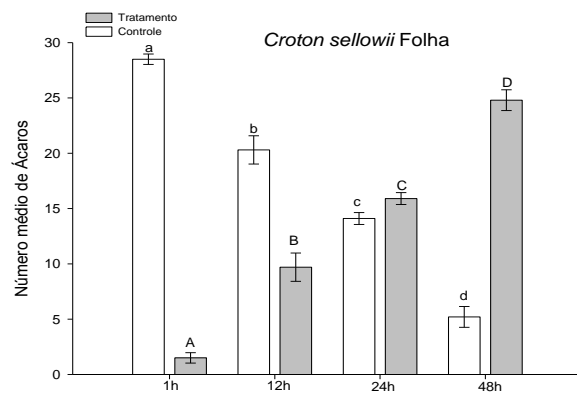


Figura 25: Número médio de ácaros nos discos de folhas tratados e não tratados com óleos essenciais de *C. sellowii*, óxido de cariofileno e β -cariofileno em 1, 12, 24 e 48h após o tratamento.

De acordo com a Figura 25, a quantidade de ácaros expostos aos óleos, óxido de cariofileno e β -cariofileno nas primeiras horas de avaliação foi expressivamente maior no controle do que no tratamento, havendo diferença estatística significativa. Após 24h os ácaros encontravam-se mais no disco do tratamento que no disco do controle isto para o óleo essencial das folhas de *C. sellowii* ($F(3,36)=126,84, p<0,0001$), enquanto que para o óleo essencial do caule ($F(3,36)=35,05, p<0,0001$) só após 48h que os ácaros preferiram o disco tratado, com os compostos β -cariofileno ($F(3,36)=17,82, p<0,0001$) e o óxido de cariofileno ($F(3,36)=17,57, p<0,0001$), os ácaros encontravam-se igualmente distribuídos em ambos os discos.

No bioensaio de dupla escolha, a preferência dos ácaros, após 24h de exposição ao óleo das folhas e após 48h de exposição ao óleo do caule de *C. sellowii*, para os discos tratados pode ser justificada devido ao fato de que esses experimentos são realizados em sistema aberto, ao contrário dos bioensaios de repelência, que são fechados. O teste de dupla escolha permite a volatilização completa de alguns componentes mais voláteis no período de 48h, sugerindo que os componentes menos voláteis não apresentem ação repelente.

Por outro lado, os ácaros expostos aos compostos óxido de cariofileno e β -cariofileno mostraram a mesma preferência para os discos controle e tratados. Isso pode indicar que o óxido de cariofileno é um dos componente menos volátil que não apresenta ação repelente e que o β -cariofileno é volatilizado após 48 h. Esses dados somados com os dos bioensaios de repelência sugerem que tanto os componentes com maior e menor volatilidade são responsáveis pela ação repelente. Esses resultados estão de acordo com

aqueles registrados por Miresmailli & Isman (2006) para o óleo essencial de *R. officinalis* sobre *T. urticae*. Os autores reportaram que o óleo foi repelente, mas que esse efeito declinou significativamente com o tempo e, após 48h, não houve mais diferença, o que foi observado no presente estudo. Provavelmente os constituintes menos voláteis presentes no óleo essencial de *R. officinalis* não atuaram no comportamento dos ácaros, permitindo sua movimentação dos discos controle para os tratados.

A Figura 26 mostra a quantidade média de ovos postos por fêmeas do ácaro rajado expostas aos óleos essenciais de folhas e caule de *C. sellowii*, β -cariofileno e óxido de cariofileno. O óleo essencial das folhas ($F(3,36)=38,50$, $p<0,0001$) e caule ($F(3,36)=35,05$, $p<0,0001$) de *C. sellowii* interferiu drasticamente na preferência dos ácaros durante todo o período, para oviposição, assim como para o β -cariofileno ($F(3,36)=1235,02$, $p<0,0001$). O óxido de cariofileno ($F(3,36)=1438,36$, $p<0,0001$) não interferiu significativamente na preferência dos ácaros, durante todo o período, para oviposição. Por outro lado, de acordo com os resultados do teste F ($p = 0,05$) obtidos para o óleo e para os compostos indicam que todos eles atuaram significativamente na preferência dos ácaros durante todo o período de exposição. Considerando que a composição química dos óleos testados são outra, após 48h de exposição dos ácaros, devido à evaporação dos constituintes mais voláteis, esses resultados sugerem que a presença dos componentes de menor volatilidade, presentes em maior quantidade após 48h, sejam os responsáveis pela preferência de oviposição observadas para os ácaros.

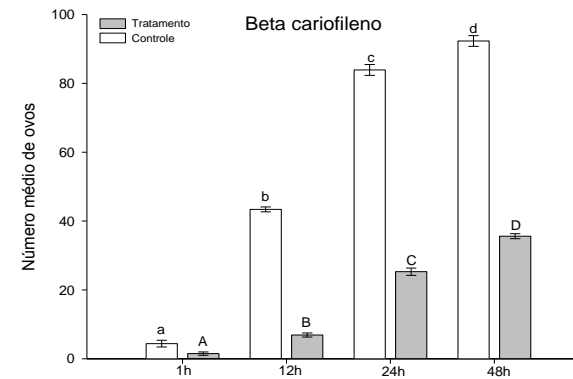
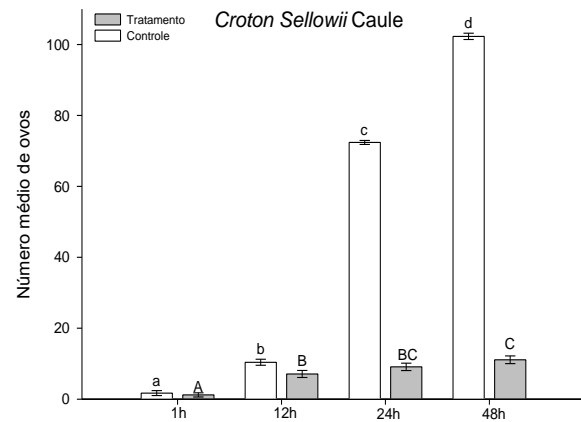
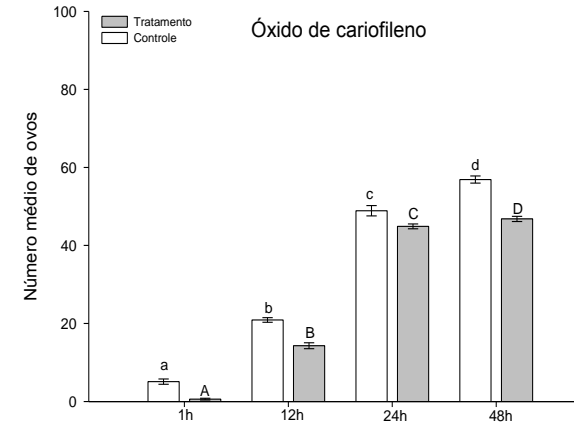
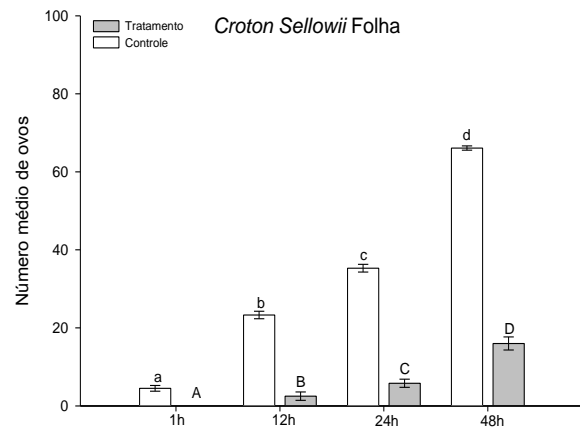


Figura 26: Número médio de ovos nos discos de folhas tratados e não tratados com óleos essenciais de folha e caule de *C. sellowii*, óxido de cariofileno e β -cariofileno em 1, 12, 24 e 48h após o tratamento.

Esses resultados estão de acordo com os reportados por Miresmailli & Isman (2006). Segundo os autores, embora com o passar do tempo tenha sido observada a movimentação dos ácaros entre os discos tratados e não tratados, o óleo de *R. officinalis*, após 48h, alterou o comportamento dos ácaros, que preferiram os discos controle para ovipositar. O mesmo foi observado para os óleos de *C. selowii* e os compostos testados (β -cariofileno e óxido de cariofileno).

Este é o primeiro relato da ação dos óleos essenciais das folhas e caule da espécie *Croton sellowii* sobre o ácaro rajado. Os resultados obtidos sugerem que as diferentes atividades letais e subletais observadas para os óleos essenciais podem estar relacionadas às diferenças qualitativas e quantitativas nas composições químicas do óleo essencial.

O emprego das diferentes metodologias para avaliação da ação letal e subletal dos óleos de *Croton* sugerem que os constituintes químicos voláteis são fundamentais na toxicidade e mudança de comportamento da praga, mas que os compostos com menor volatilidade também tem sua contribuição na propriedade acaricida observada para o óleo estudado. Os resultados dos testes letais e subletais obtidos para os óleos de *Croton sellowii* indica que esses óleos apresentam potencial acaricida para o controle de *T. urticae*, uma vez que pode ser combinados com outras táticas de controle para serem utilizados no manejo integrado do ácaro rajado. No entanto, novos estudos devem ser conduzidos para avaliar o custo e a eficiência desse óleo essencial em casa de vegetação assim como na preparação de formulações para serem utilizadas em ambientes abertos, sua ação contra inimigos naturais, bem como a fitotoxicidade desses óleos em plantas hospedeiras do ácaro rajado.

4. CONCLUSÃO

Estes resultados mostram que a variabilidade (diferenças e / ou semelhanças) na composição dos óleos essenciais das espécies de *Croton* discutidos depende essencialmente sobre a origem das amostras, a influência de circunstâncias geográficas e climáticas.

Análises por CG/EM de óleos essenciais de *E. uvalha* do estado de Pernambuco comparado com amostras de outra região do Brasil (Região Sul) sugerem um novo quimiotipo (β -cariofileno, para folhas e flores e óxido de cariofileno, para o Caule).

De acordo com o tipo de experimentos utilizados neste estudo, todos os óleos de testados foram eficazes contra a fêmea adulta de *T. urticae*. Isto demonstra que o modo de ação dos óleos foi causada tanto pela ação na fase de vapor e as toxicidades observadas foram pela penetração através do sistema respiratório, como através do contato direto por meio dos traços e/ou alimentação, como também através da repelência.

Este é o primeiro relato da atividade acaricida sobre *T. urticae* das espécies: *Croton jacobinensis*, *C. micans*, *C. rhamnifolius*, *C. muscicapa*, *Eugenia uvalha* e *Croton sellowii*.

Primeiro registro da composição química de óleos essenciais das espécies: *Croton jacobinensis*, *C. micans*, *C. rhamnifolius*, *C. muscicapa*, *C. pulegioides*, *C. rhamnifolius* var. *heliotropiifolius*, *Eugenia uvalha* e *Croton sellowii*.

Os resultados do estudo indicam que os óleos essenciais das espécies de *Croton*, assim como de *E. uvalha* poderiam ser estudados como uma potencial acaricida natural. Através da toxicidade aguda e / ou a capacidade de alterar comportamentos reprodutivos é muito importante que todos os resultados encontrados para os óleos podem ser usado como alternativa ao controle de manejo integrada de *T. urticae*.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. Illinois, Allured Publishing Corporation, 468p. 1995.

ALBUQUERQUE, U.P.; ANDRADE, L.H.C. Conhecimentos botânicos tradicional e conservação em uma área de Caatinga no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, v. 1, p. 273-285, 2002.

APEL, M. A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIERE, J. Chemical composition of the essential oils of *Eugenia beaurepaireana* and *Eugenia pyriformis*: Section dichotomae. **Journal of Essential Oil Research**, v.16, n.3, p.191-192, 2004.

ARAÚJO-JÚNIOR, C.P.; CAMARA, C. A. G.; NEVES, I. A.; RIBEIRO, N. C.; GOMES, C. A.; MORAES, M. M.; BOTELHO, P. B.; Acaricidal Activity against *Tetranychus urticae* and Chemical Composition of Peel Essential Oils of Three *Citrus* Species Cultivated in NE Brazil. **Natural Product Communications**. v.5, n.3, p. 471-476. 2010.

ASLAN, İ.; OZBEK, H.; ÇALMAŞUR, O.; ŞAHİN, F. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crop and Products**, v.19, p. 167-173, 2004.

BARAKAT, A.A.; SHEREEF G.M.; ABDALLAH S.A.; AMER S.A. Effect of some pesticides extracts on some biological aspects of *Tetranychus urticae* Kock. Bull. **Entomological Society**, v. 14, p. 225-232, 1986.

BICUDO, C. A.; MENEZES, N. A. **Biodiversity in Brazil: a First Approach**., São Paulo: CNPq/Instituto de Botânica, pp. 121-154, 1996.

BRACHO, R.; CROWLEY, K.J. The essential oils of some venezuelan *Croton* species. **Phytochemistry**, v. 5, p. 921, 1966;

BRAGA, R.A. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3 ed. Fortaleza: ESAM, p. 560, 1976.

CHOI, WON-IL; LEE, SANG-GEUI; PARK, HYUNG-MAN; AHN, YOUNG-JOON. Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). **Journal of Economic Entomology**, v.97, n.2, p.553-558, 2004.

COITINHO, R. L. B. C.; VARGAS DE OLIVEIRA, J.; GONDIM, M. G. C.; GOMES DA CAMARA, C. A. Toxicity by fumigation, contact and ingestion of essential oils in *Sitophilus zeamais* MOTSCHULSKY, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciencia e Agrotecnologia**, v.35, n.1, p.172-178, 2011.

COMPAGNONE, R.S.; CHAVEZ, K.; MATEU, E.; ORSINI, G.; ARVELO, F.; SUÁREZ, A.I. Composition and cytotoxic activity of essential oils from *Croton matourensis* and *Croton micans* from Venezuela. **Record of Natural Products**, v. 4, p. 101-108, 2010.

CRAVEIRO, A.A.; RODRIGUES, A.S.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; MACHADO, M.I.L. Volatile constituents of brazilian Euphorbiaceae. genus *Croton*. **Journal Natural Products**, v. 44, p. 608, 1981.

CROCOMO, W. B. **Manejo integrado de pragas**. Botucatu: Unesp, 1990. P-9-34.

DE PAULA, H. C. B.; DE OLIVEIRA, E. F.; ABREU, F. O. M. S.; DE PAULA, R. C. M.; DE MORAIS, S. M.; FORTE, M. M. C. ALG/Ca beads as an encapsulation agent of *Croton zehntneri* Pax et Hoffm essential oil **Polimeros: Ciencia e Tecnologia**, v.20, n.2, p.112-120, 2010

DIAS, I.J.M.; da CAMARA, C.A.G.; NOGUEIRA, P.C.L. Volatile constituents of the leaves of *Croton sellowii* Baill (Euphorbiaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, p 360-361, 2006.

DORIA, G. A. A.; SILVA, W. J.; CARVALHO, G. A.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. H. A study of the larvicidal activity of two *Croton* species from northeastern Brazil against *Aedes aegypti*. **Pharmaceutical Biology (London, United Kingdom)**, v.48, n.6, p.615-620, 2010.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolites production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal** , v.23, p.213-226, 2008.

FLECHTMANN, C.H.W. **Ácaros de importância agrícola**. São Paulo, Nobel, 189p. 1989.

FLEISCHER, T. C., WAIGH, R. D.; WATERMAN, P. G. Pogostol O-Methyl Ether and Artabotrol: Two Novel Sesquiterpenes from the Stem Bark of *Artabotrys stenopetalus*. **Journal Natural Products**, v.60, p.1054-1056, 1997.

FURUSAWA, M.; HASHIMOTO, T.; NOMA, Y.; ASAKAWA, Y. Biotransformation of Citrus Aromatics Nootkatone and Valencene by Microorganisms. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.53, n.11, p.1423-1429, 2005.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; de BAPTISTA, G. C.; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; L. MARCHINI, C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba, FEALQ, 920p. 2002

GONÇALVES, M.E.C.; OLIVEIRA, J.V.; BARROS, R.; LIMA, M.P.L. Extratos aquosos de plantas e o comportamento do ácaro verde da mandioca. **Scientia Agrícola Journal**, v. 58, p. 475-479, 2001a.

GONÇALVES, M. E. C.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Efeito de extratos vegetais sobre estágios imaturos e fêmeas adultas de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomology**, v.30, n.2, p.305-309, 2001b.

GONÇALVES, P.A.S. Eficácia de inseticidas sintéticos e naturais no controle de tripes em cebola. **Horticultura Brasileira**, v.15, p. 32-34, 1997.

HAYMANA, A. R.; WEAVERSA, R. T.; Terpenes of foliage oils from *Halocarpus bidwillii*, **Phytochemistry**, v.29, n. 10, p.3157-3162, 1990.

HEYWOOD, V.H. **Flowering Plants of the World**. Oxford University Press, New Nbrk, NY. 1993.

<http://www.ibge.gov.br>

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

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L., **Brittonia**, 49, 508-536, 1997.

LARIONOV, V.O.; COREY, E.J. An Unconventional Approach to the Enantioselective Synthesis of Caryophylloids. **Journal American Chemical Society**, v.130, p.2954-2955, 2008.

LEORA. POLO-PC: An user's guide to Probit Or Logit analysis. **LeOra Software**, Berkely, CA. 1987.

MIRESMAILLI, S.; BRADBURY, R.; ISMAN, M. B. Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. **Pest Management Science**, v.62, p.366-371, 2006.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M.B. Efficacy and Persistence of Rosemary Oil as an Acaricide Against Twospotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae) on Greenhouse Tomato. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 6, p. 2015-2023, 2006.

MORA, F. D.; AVILA, J. L.; ROJAS, L. B.; RAMIREZ, R.; USUBILLAGA, A.; SEGNINI, S.; CARMONA, J.; SILVA, B. Chemical composition and larvicidal activity of *Eugenia triquetra* essential oil from Venezuelan Andes. **Natural Product Communications**, v.5, n.6, p.965-968, 2010.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; BERTINI, L. M.; OLIVEIRA, C. L. L.; RODRIGUES, J. R. B.; CARDOSO, J. H. L. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v.22, n.1, p. 161-164, 2006.

NERIO, L.S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E.. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). **Journal of Stored Products Research**, v.45, p. 212-214, 2009.

ODALO, J. O.; OMOLO, M. O.; MALEBO, H.; ANGIRA, J.; NJERU, P. M.; NDIEGE, I. O.; HASSANALI, A. Repellency of essential oils of some plants from

the Kenyan coast against *Anopheles gambiae*. **Acta Tropica**, v.95, n.3, p.210-218, 2005.

OLIVEIRA, J.C.S.; DIAS, I.J.M.; CÂMARA, C.A.G.; SCHWARTZ, M.O.E. Volatile Constituents of the Leaf Oils of *Piper aduncum* L. from different regions of Pernambuco (Northeast of Brazil). **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, p. 557-559, 2006.

OLIVEIRA, J.V.; VENDRAMIM, J.D.; HADDAD, M. L. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. **Revista de Agricultura**, v. 74, p. 217-224, 1999.

OLIVEIRA, R.N.; DIAS, I.J.M.; MELO, I.J.M.; CÂMARA, C.A.G. Estudo Comparativo do Óleo Essencial de *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. de Diferentes Localidades de Pernambuco. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 39-43, 2005.

OMOLO, M. O.; OKINYO, D.; NDIEGE, I. O.; LWANDE, W.; HASSANALI, A. Fumigant toxicity of the essential oils of some African plants against *Anopheles gambiae* sensu stricto. **Phytomedicine**, v.12, n.3, p.241-246, 2005.

PEREZ-AMADOR, M.C.; MONROY, M.A.; BUSTAMANTE, G. Essential oil in leaves of *Croton pseudoniveus* & *C. suberosus* (Euphorbiaceae) species. **Phyton**, v. 4, p. 109-112, 2003.

PIO CORREA, M., **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro, 5, 512, 1984.

PONTES, W.J.T.; OLIVEIRA, J.C.S.; CÂMARA, C.A.G.; LOPES, A.C.H.R.; GONDIM JUNIOR, M.G.C.; OLIVEIRA, J.V.; BARROS, R.; SCHWARTZ, M.O.E. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* L. (Burseraceae). **Acta Amazonica**, v. 37, p. 103-110, 2007a.

PONTES, W.J.T.; OLIVEIRA, J.C.S.; CÂMARA, C.A.G.; LOPES, A.C.H.R.; GONDIM JUNIOR, M.G.C.; OLIVEIRA, J.V.; SCHWARTZ, M.O.E. Composition and Acaricidal Activity of the Resins Essential Oil of *Protium bahianum* Daly Against two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 379-383, 2007b.

PONTES, W.J.T.; OLIVEIRA, J.C.S.; CÂMARA, C.A.G.; GONDIM JUNIOR, M.G.C.; OLIVEIRA, J.V.; SCHWARTZ, M.O.E. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopia sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). **Química Nova**, v. 30, p. 838-841, 2007c.

POTENZA, M.R.; TAKEMATSU, A.P.; BENEDICTO, L.H. Avaliação do controle de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) através de extratos vegetais, em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 66, p. 91-97, 1999a.

POTENZA, M.R.; TAKEMATSU, A.P.; SIVIERI, A.P.; SATO, M.E.; PASSEROTTI, C.M. Efeito acaricida de alguns extratos vegetais sobre *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 66, p. 31-37, 1999b.

RADULOVIC, N.; MANANJARASOA, E.; HARINANTENAINA, L.; YOSHINORI, A. Essential oil composition of four *Croton* species from Madagascar and their chemotaxonomy. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, p. 648-653, 2006.

RANAU, K.P.; FLORÊNCIO, D.C.; FERREIRA, C.P.; XAVIER, H.S. Pharmacognostic study of *Croton rhamnifolius* H.B.K. and *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 96, 2004.

ROBERTSON, J.L. & H.K. PREISLER. **Pesticide bioassays with arthropods**. California, CRC Press..p.127, 1992

RUDOLFF, E. The isolation of guaiol and α -cadinol from the wood oil of *Neocallitropsis araucarioides*. **Chemistry & Industry (London, United Kingdom)**, p.743-744, 1962.

SAMPAIO, E.V.S.B. **Overview of the Brazilian Caatinga**. p. 35-63, 1995. In S.H. BULLOCK, H. M.; Medina, E. Seasonally dry tropical forest. Cambridge University Press, Cambridge.

SANTOS, H. S.; SANTIAGO, G. M. P.; DE OLIVEIRA, J. P. P.; ARRIAGA, A. M. C.; MARQUES, D. D.; LEMOS, T. L. G. Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Croton zehntneri*., **Natural Product Communications**, v.2, n.12, p.1233-1236, 2007.

SAS INSTITUTE. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.0, 7th ed. **SAS Institute, Cary, NC**. 2002.

SILVA, C. G. V.; ZAGO, H. B.; JUNIOR, H. J. G. S.; DA CAMARA, C. A. G.; DE OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; SCHWARTZ, M. O. E.; LUCENA, M. F. A. Composition and insecticidal activity of the essential oil of *Croton grewoides* Baill. against Mexican bean weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). **Journal of Essential Oil Research**, v.20, n.2, p.179-182, 2008.

SILVA, J.M.C.; TABARELLI, M. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of Northeastern Brazil. **Nature**, v. 404, p. 72-74, 2000.

SILVA, V.C.A.; BARROS, R.; MARQUES, E.J.; TORRES, J.B. Susceptibility of *Plutella xylostela* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to the fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. And *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Neotropical Entomology**, v. 32, p.. 653-658, 2003.

SIM, M.; CHOI, D.; AHN, Y. Vapor phase toxicity of plant essential oils to *Cadra cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, v.99, n.2, p.593-598, 2006.

STEFANELLO, M. E. A.; WISNIEWSKI, A.; SIMIONATTO, E. L.; CERVI, A. C. Chemical composition and seasonal variation of essential oils of *Eugenia pyriformis* (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v.28, n.3, p.449-453, 2009.

SUDARAM, K.M.S.; CAMPBELL, R.; SLONAE, L.; STUDENTS, J. Uptake, translocation, persistence and fate of azadirachtin in aspen plants (*Populus tremuloides* Michx.) and its effect on pestiferous two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Crop Protection**, v. 35, p. 6314, 1995.

TORRES, M. C. M.; ASSUNCAO, J. C.; SANTIAGO, G. M. P.; ANDRADE-NETO, M.; SILVEIRA, E. R.; COSTA-LOTUFO, L. V.; BEZERRA, D. P.; MARINHO FILHO, J. D. B.; VIANA, F. A.; PESSOA, O. D. L., Larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. **Chemistry & Biodiversity**, v.5, n.12, p.2724-2728, 2008.

VAN DEN DOOL, E.; KRATZ, P. A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. **Journal of Chromatography Science**, v. 11, p. 463, 1963.

WESTFELT, L.; WICKBERG, B. Chemistry of the natural order *Cupressales*.LIII. Sesquiterpenes from the wood of *Athrotaxis selaginoides* **Arkiv foer Kemi**, v.26, n.46, p.545-548, 1967.

WU, H.; LI, J.; HE Z.; LIU Z. Acaricidal activities of traditional Chinese medicine against the house dust mite, *Dermatophagoides farina*. **Parasitology**, v.137, 975–983, 2010.