

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

Marcilio Martins de Moraes

RELAÇÃO ENTRE A TOXICIDADE DE MONO E SESQUITERPENOS
IDENTIFICADOS NO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Ocotea*
(Lauraceae) e *Eugenia* (Myrtaceae) SOBRE O ÁCARO RAJADO (*Tetranychus*
urticae)

Dissertação apresentada pelo discente Marcilio Martins de Moraes sob a orientação do Prof. Dr. Claudio 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 FEVEREIRO 2012

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

RELAÇÃO ENTRE A TOXICIDADE DE MONO E SESQUITERPENOS
IDENTIFICADOS NO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Ocotea*
(Lauraceae) e *Eugenia* (Myrtaceae) SOBRE O ÁCARO RAJADO (*Tetranychus*
urticae)

Por: MARCILIO MARTINS DE MORAES

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de **Mestre em Química** e aprovada em ____/____/2012 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 externo/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

"Que o teu trabalho seja perfeito para que, mesmo depois da tua morte, ele permaneça."

(Leonardo da Vinci)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Marcondes Martins de Moraes e Margarida Maria Coutinho de Moraes por auxiliarem na formação da minha personalidade, sempre com exemplos e palavras de conforto durante minha educação.

Ao meu irmão, Marcio Andre Martins e Moraes, que sempre me auxiliou quando necessário.

A minha namorada, Elaine Cristina de Assis, que desde o princípio sempre me incentivou e não deixou que desistisse no meio da caminhada, com seus conselhos e opiniões.

A minha prima Claudia Fernanda e meu amigo Rodolfo Rodrigues que não me deixaram desistir do meu sonho.

AGRADECIMENTOS

A minha família que sempre me compreendeu e apoiou em todas as minhas decisões.

As pessoas que estiveram ao meu lado em tantos momentos: Rodolfo, Telma, Nayde, Gesiane, Nicolle, Flávia, Mário, Roberta, Jazon, Rafaela, Edimilson, Natalia, Ana Amâncio, agradeço a todos vocês por toda ajuda e 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.

Aos professores do programa de pós-graduação em química da UFRPE, em especial, ao prof. Celso Camara pelos ensinamentos em química orgânica e ao prof. Clécio Ramos pelos ensinamentos e amizade.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Programa de Pós Graduação em Química (PPGQ), pela oportunidade de desenvolver este trabalho de pesquisa.

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo investigar a composição química do óleo essencial das folhas de *Ocotea duckei* e *Ocotea glomerata* e das folhas e frutos de *Eugenia langsdorffii* por CG-FID e CG-EM bem como avaliar a ação acaricida desses óleos essenciais e de seus compostos (de forma isolada e na forma de blendas) sobre o *Tetranychus urticae*. Os óleos das folhas das espécies do gênero *Ocotea* foram caracterizados pelo alto percentual de sesquiterpenos. Os principais compostos identificados foram o β -cariofileno ($18,6\pm 0,1\%$) e o valenceno ($17,6\pm 0,0\%$) no óleo da *O. duckei* e o Aromadendreno ($17,3\pm 0,6\%$) e β -cariofileno ($14,6\pm 0,3\%$) no óleo da *O. glomerata*. Os óleos das folhas e dos frutos da *E. langsdorffii* foram caracterizados pelo alto percentual de sesquiterpenos. *Epi*-longipinanol ($13,6\pm 0,1\%$) e γ -eudesmol ($12,3\pm 0,2\%$) foram os componentes principais no óleo das folhas, enquanto que 10-*epi*- γ -eudesmol ($35,7\pm 0,3\%$) e 1,10-*di*-*epi*-cubennol ($15,6\pm 0,3\%$) foram os constituintes majoritários identificados no óleo dos frutos. Todos os óleos testados foram tóxicos ao *T. urticae*. O óleo da *O. duckei* ($CL_{50} = 0,52 \mu\text{L L}^{-1}$ de ar) se mostrou 2,5 vezes mais tóxico do que o óleo da *O. glomerata* no teste de fumigação e 1,5 vezes mais tóxico do que o óleo da *O. glomerata* ($CL_{50} = 7,22 \mu\text{L/mL}$) no teste de contato residual. O óleo das folhas da *E. langsdorffii* ($CL_{50} = 1,7 \text{ mL L}^{-1}$ ar) foi 1,7 vezes mais tóxico do que o óleo dos frutos por fumigação, e 1,8 vezes menos tóxico por contato residual. A toxicidade por fumigação observada para todos os óleos foi muito inferior comparada com o controle positivo (eugenol). Entretanto, o efeito de contato residual dos óleos das folhas de *O. duckei*, *O. glomerata* e dos frutos da *E. langsdorffii* foram apenas 2,5; 4,0 e 6,7 vezes menor do que a do eugenol. A relação entre a propriedade acaricida dos constituintes e das blendas de todos os óleos investigados também é discutida.

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

ABSTRACT

The present study aims to investigate the chemical composition of essential oil from leaves of *Ocotea duckei* and *Ocotea glomerata* and leaves and fruits of *Eugenia langsdorffii* by GC-FID and GC-MS and to evaluate the acaricide action of essential oils and their compounds (separately and as blends) on the *Tetranychus urticae*. The oils from the leaves of species of the genus *Ocotea* were characterized by high percentage of sesquiterpenes. The main compounds identified were β -caryophyllene ($18.6 \pm 0.1\%$) and valenceno ($17.6 \pm 0.0\%$) for the oil of *O. duckei* and aromadendrene ($17.3 \pm 0.6\%$) and β -caryophyllene ($14.6 \pm 0.3\%$) for the oil of *O. glomerata*. The oils from leaves and fruits of *E. langsdorffii* were characterized by high percentage of sesquiterpenes. *Epi*-longipinanol ($13.6 \pm 0.1\%$) and γ -eudesmol ($12.3 \pm 0.2\%$) were the main components of oil from the leaves, while 10-*epi*- γ -eudesmol ($35.7 \pm 0.3\%$) and 1,10-di-*epi*-cubennol ($15.6 \pm 0.3\%$) were the major identified in the oil of the fruits. All oils tested were toxic to *T. urticae*. The oil of *O. duckei* ($LC_{50} = 0.52$ mL L⁻¹ from air) showed 2.5 times more toxic than the oil of *O. glomerata* fumigation test and 1.5 times more toxic than the oil of *O. glomerata* ($LC_{50} = 7.22$ mL / mL) in the residual contact test. The oil from the leaves of *E. langsdorffii* ($LC_{50} = 1.7$ mL L⁻¹ air) was 1.7 times more toxic than the oil of the fruit by fumigation, and 1.8 times less toxic by residual contact. The fumigation toxicity observed for all oils was much lower compared with the positive control (eugenol). However, the effect of residual contact of the oils from the leaves of *O. duckei*, *O. glomerata* and the fruits of *E. langsdorffii* were only 2.5, 4.0 and 6.7 times lower than that of eugenol. The relationship between property acaricide, constituents and the blends of all the oils investigated in this work is also discussed.

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

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura da azadiractina	17
Figura 2	Principais compostos identificados nos óleos de espécies do gênero <i>Ocotea</i>	21
Figura 3	<i>Ocotea dukei</i> Vattimo. Gil	23
Figura 4	Estrutura da iangambina	24
Figura 5	<i>Ocotea glomerata</i> Mez.	25
Figura 6	<i>Eugenia langsdorffii</i> O. Berg.	28
Figura 7.	Estrutura química dos compostos usados na identificação do óleo essencial e nos experimentos acaricidas.	33
Figura 8.	Cromatograma do óleo essencial das folhas da espécie <i>Ocotea duckei</i> , com as estruturas dos constituintes majoritários	48
Figura 9.	Cromatograma do óleo essencial das folhas da espécie de <i>Ocotea glomerata</i> , com as estruturas dos constituintes majoritários.	50
Figura 10.	Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos de adultos fêmeas de <i>T. urticae</i> em diferentes concentrações.	53
Figura 11.	Curva de concentração-mortalidade para fêmeas de <i>T. urticae</i> submetidas a fumigação e contato residual dos óleos essenciais de <i>O. duckei</i> e <i>O. glomerata</i> .	56
Figura 12.	Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos das fêmeas de <i>T. urticae</i> em diferentes concentrações no experimento de fumigação dos compostos individuais selecionados a partir dos óleos de <i>Ocotea duckei</i> e <i>Ocotea glomerata</i> .	59
Figura 13.	Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos das fêmeas de <i>T. urticae</i> em diferentes concentrações no experimento de contato residual dos mono e sesquiterpenos selecionados a partir do óleo de <i>O. duckei</i> e <i>O. glomerata</i> .	64
Figura 14.	Mortalidade média causada pelas blendas incompletas preparadas com a remoção de um dos constituintes da mistura artificial de <i>O. duckei</i> sobre <i>T. urticae</i> na concentração equivalente a do experimento com o óleo das folhas que promoveu mortalidade de $\geq 96.0\%$ (3,2 $\mu\text{L/L}$ de ar para fumigação e 20 $\mu\text{L/mL}$ para contato residual).	73
Figura 15.	Mortalidade média causada pelas blendas incompletas preparadas com a remoção de um dos constituintes da mistura	75

	artificial de <i>O. glomerata</i> sobre <i>T. urticae</i> na concentração equivalente a do experimento com o óleo essencial que promoveu mortalidade $\geq 96.0\%$ (3,6 $\mu\text{L/L}$ de ar para fumigação e 22 $\mu\text{L/mL}$ para contato residual).	
Figura 16.	Cromatograma do óleo essencial das folhas da espécie <i>Eugenia langsdorffii</i> , com as estruturas dos constituintes majoritários.	77
Figura 17.	Cromatograma do óleo essencial das frutos da espécie <i>Eugenia langsdorffii</i> , com as estruturas dos constituintes majoritários.	78
Figura 18.	Constituintes do óleo das folhas de <i>E. langsdorffii</i> usados de forma individual e na forma de blendas, no teste de fumigação.	91
Figura 19.	Constituintes do óleo das folhas de <i>E. langsdorffii</i> usados de forma individual e na forma de blendas, no teste de contato residual.	92
Figura 20.	Toxicidade causa pelo óleo essencial, blenda completa, e blendas formuladas partir dos constituintes do óleo das folhas da <i>Eugenia langsdorffii</i> sobre o <i>T. urticae</i> .	93
Figura 21.	Toxicidade média causada pelo óleo essencial, mistura completa e blendas selecionadas dos constituintes do óleo das folhas da <i>E. langsdorffii</i> sobre o <i>T. urticae</i> .	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Rendimento, rotação específica e percentual relativo dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das espécies do gênero <i>Ocotea</i> .	40
Tabela 2.	Toxicidade por fumigação (CL ₅₀ em µL/L de ar) e contato residual (CL ₅₀ em µL/mL) dos óleos essenciais da <i>O. duckei</i> , <i>O. glomerata</i> e do eugenol sobre <i>T. urticae</i> .	55
Tabela 3.	Toxicidade por fumigação (CL ₅₀ em µL/L de ar) dos compostos individuais sobre <i>T. urticae</i> .	62
Tabela 4.	Toxicidade por contato residual (CL ₅₀ em µL/mL) dos compostos individuais sobre <i>T. urticae</i> .	67
Tabela 5.	Toxicidade por fumigação (CL ₅₀ em µL/L de ar) e contato residual (CL ₅₀ em µL/mL) das blendas dos óleos essenciais da <i>O. duckei</i> e <i>O. glomerata</i> sobre <i>T. urticae</i> .	70
Tabela 6.	Rendimento, rotação específica e percentual relativo dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas e frutos de <i>Eugenia langsdorffii</i>	79
Tabela 7.	Toxicidade por Fumigação (CL ₅₀ em µL/L de ar) e contato residual (CL ₅₀ em µL/mL) do óleo essencial da <i>E. langsdorffi</i> sobre o <i>T. urticae</i> .	84
Tabela 8.	Mortalidade (%±SD) causada pelos constituintes individuais encontrados nos óleos essenciais da <i>E. langsdorffii</i> sobre o <i>T. urticae</i> , aplicado na mesma concentração do óleo das folhas e frutos que apresentaram mortalidade ≥ 96,0%.	86

LISTA DE ABREVIATURAS

CL ₅₀	Concentração letal média	22
PAF	Receptor de Ativação das Plaquetas	24
CG	Cromatografia gasosa	27
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas	27
UFPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco	29
LPNBio	Laboratório de Produtos Naturais Bioativos	29
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco	29
CENAPESQ	Centro de Apoio à Pesquisa	29
DQF	Departamento de Química Fundamental	29
UnB	Universidade de Brasília	30
UEG	Universidade Estadual de Goiás	30
GPS	Global Position System	31
UR	Umidade Relativa	33
IR	Índice de retenção	38
CI	Co-Injeção com padrão autêntico.	38
EM	Espectro de Massas	38
GL	Grau de liberdade	48
IC	Intervalo de confiança	48
RT	Razão de toxicidade	48
FM	Mistura completas dos constituintes (Full mixture)	79
MACI	Compostos mais ativos isoladamente (Most active constituents isolated)	79

LACI	Compostos menos ativos isoladamente (Less active constituents isolated)	79
MACE	Componentes mais ativos do ensaio de eliminação da mistura completa (Most active components elimination)	79
LACE	Componentes menos ativos do ensaio de eliminação da mistura completa (Less active components elimination)	80
MACI + MACE	Soma das duas misturas dos compostos mais ativos.	80
LACI + LACE	Soma das duas misturas dos compostos menos ativos.	80
CFF	Fumigação com camara fechada	83
CFA	Fumigação com camara aberta	83

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
1.1.	Família Lauraceae e o gênero <i>Ocotea</i>.	19
1.1.1.	Estudo químico e biológico do óleo essencial de espécies do gênero <i>Ocotea</i>	20
1.1.2.	Espécies do gênero <i>Ocotea</i> selecionada para o estudo.	22
1.2.	Família Myrtaceae e o gênero <i>Eugenia</i>.	25
1.2.1.	Estudo químico e biológico do óleo essencial de espécies do gênero <i>Eugenia</i>	26
1.2.2.	Espécie do gênero <i>Eugenia</i> selecionada para o estudo.	27
1.3.	Objetivos	28
1.3.1.	Geral	28
1.3.2.	Específicos	29
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	30
2.1.	Coleta do material botânico	30
2.2.	Obtenção dos óleos essenciais	31
2.3.	Padrões químicos	32
2.4.	Identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais por Cromatografia gasosa (CG) e Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM).	34
2.5.	Rotação óptica dos óleos essenciais	35
2.6.	Criação do <i>Tetranychus urticae</i>	35
2.7.	Bioensaio de Fumigação	35
2.8.	Bioensaio de Contato Residual	36
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
3.1.	Composição química e atividade acaricida dos óleos essenciais das folhas das duas espécies do gênero <i>Ocotea</i>	38
3.1.1.	Determinação dos constituintes químicos do óleo de <i>Ocotea duckei</i> e <i>Ocotea glomerata</i> .	38
3.1.2.	Toxicidade por fumigação e contato residual do óleo essencial de <i>O. duckei</i> e <i>O. glomerata</i> sobre o <i>T. urticae</i> .	51

3.1.3.	Toxicidade por fumigação e contato dos constituintes selecionados a partir dos óleos de <i>Ocotea</i> .	58
3.1.4.	Toxicidade das blendas preparadas com os constituintes químicos selecionados a partir do óleo de <i>O. dukcei</i> e <i>O. glomerata</i> .	68
3.2.	Composição química e atividade acaricida dos óleos essenciais das folhas e frutos da <i>Eugenia langsdorffii</i>	76
4.	CONCLUSÕES	99
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

1. INTRODUÇÃO

Ácaros de interesse agrícola são pragas que provocam grandes prejuízos para os pequenos, médios e grandes agricultores. Dentre eles, destaca-se o *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) (ácaro-rajado), uma espécie cosmopolita de ocorrência em regiões temperadas e tropicais. Podem ocorrer em ambientes fechados ou no campo atacando uma grande variedade de culturas economicamente de valor nutritivo ou ornamental em todo o mundo (GALLO *et al.* 2002).

No Brasil, essa praga já foi registrada em diversos estados de Norte a Sul. Em Pernambuco, seu primeiro registro de ocorrência foi em 1985, após o início dos cultivos irrigados no município de Petrolina (MORAES, 2001). Desde então esse ácaro tem causado grandes prejuízos aos agricultores, atacando diferentes culturas como algodão, feijão, milho, soja, mamão, macieira, videira, alface, batata, berinjela, melancia, melão, morangueiro, pepino, tomateiro, além de flores de plantas ornamentais (MORAES e FLECHTMANN, 2008). A redução da infestação das formas imaturas e adultas tem sido feita com repetidas aplicações de acaricidas convencionais, os quais são freqüentemente associados com resíduos perigosos para o consumo e ao meio ambiente. (POTENZA *et al.* 1999a,b).

Os acaricidas convencionais tiveram suas origens em fatos que ocorreram antes e durante a Segunda Guerra Mundial. O auge do controle de pragas por meio da aplicação desses acaricidas ocorreu durante os anos 1945-1970. Neste período foram descobertos e desenvolvidos para uso generalizado, inseticidas orgânicos sintéticos, tais como, organoclorados, organofosforados e carbamatos (THACKER, 2002).

Em Pernambuco, este tratamento foi considerado, no início, eficiente no controle de pragas. No entanto, a utilização contínua e excessiva desses produtos, possibilitou a ocorrência de efeitos adversos, contaminando o meio ambiente e promovendo toxicidade aos mamíferos (GONÇALVES *et al.* 2001a). Esses efeitos danosos têm servido de alerta aos agricultores, direcionando-os à busca de alternativas que minimizem os transtornos ambientais e de toxicidade aos mamíferos causados pelo uso desses inseticidas. Desta forma, torna-se imprescindível o desenvolvimento de tecnologias que propiciem o controle de pragas agrícolas e que não causem impactos sociais e ambientais.

Uma alternativa viável a esses acaricidas convencionais é o uso de produtos obtidos a partir de matrizes vegetais, tais como, extratos, pós, óleos fixos e essenciais obtidos a partir de diferentes matrizes vegetais (GONÇALVES *et al.*, 2001b). Esses produtos, usados para o controle de pragas são denominados de inseticidas botânicos. Nos últimos anos, vários grupos de pesquisas, no Brasil e no exterior têm voltado à atenção para o controle do *T. urticae* com métodos alternativos, como o uso de inseticidas botânicos para o seu controle. Nos últimos 15 anos, alguns inseticidas botânicos têm sido comercializados. Dentre eles podem-se destacar os produtos baseados na azadiractina (Figura 1), um limonoide isolados das sementes de *Azadiracta indica* e aqueles formulados a partir de óleos essenciais (ISMAN, 2010).

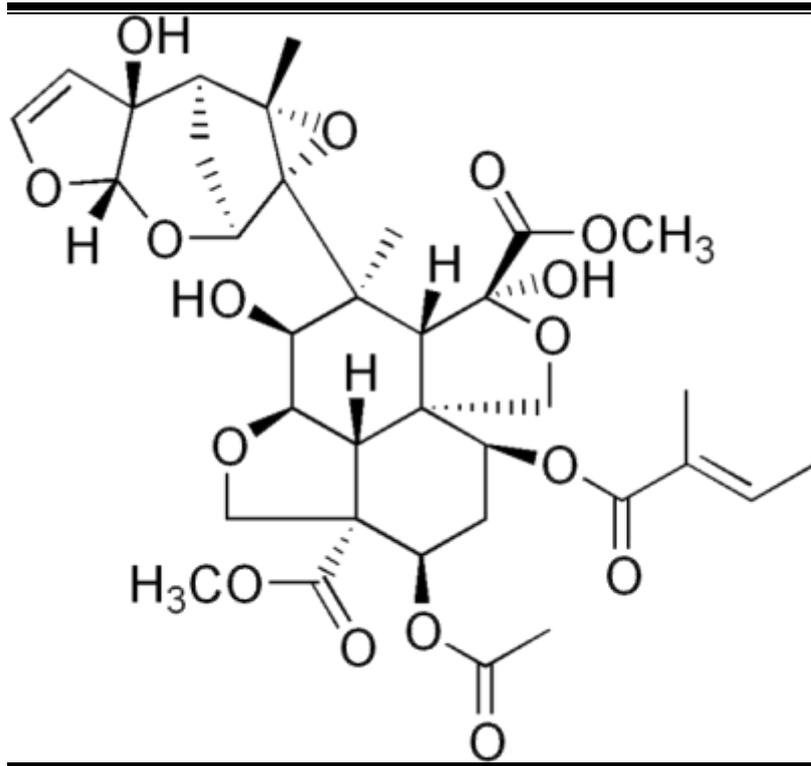


Figura 1. Estrutura da azadiractina

A posição de destaque ocupada pelo Brasil, no que se refere ao abastecimento interno e externo de frutas, cereais e plantas ornamentais, tem incentivado a pesquisa de novas técnicas e métodos alternativos para o controle de pragas. O Brasil é o país com uma das maiores diversidades vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, de um total estimado entre 350.000 a 550.000 (SIMÕES e SPITZER, 2008). Essa grandeza de biodiversidade vegetal consiste em um importante acervo para o desenvolvimento sócio-econômico do país, como fonte de corantes, óleos vegetais, óleos essenciais, fitoterápicos e antioxidantes.

Espécies vegetais 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 ou na

preparação de formulações para serem utilizados em ambientes abertos (ASLAN *et al.* 2004).

O uso de óleos essenciais representa um grande avanço para o controle de artrópodes-pragas que atacam uma grande variedade de culturas (POTENZA *et al.*, 1999a; GALLO *et al.*, 2002; FLECHTMANN, 1989). Além disso, é de baixa frequência à resistência desenvolvida por artrópodes aos óleos essenciais (ALKOFAHI *et al.*, 1989).

Recentemente, estudos com óleos essenciais a partir de plantas que ocorrem no Brasil (NEVES e CAMARA, 2011; NEVES *et al.*, 2011; ARAÚJO-JUNIOR *et al.*, 2010; PONTES *et al.*, 2007a,b,c; SILVA *et al.* 2008) e no exterior têm sido conduzidos para avaliar seu potencial contra o *T. urticae* (KIM *et al.*, 2004; CALMASUR, 2006; HAN *et al.*, 2011; MIRESMAILLI *et al.*, 2006; ATTIA *et al.*, 2011).

Investigações referentes à atividade acaricida de óleos essenciais de diversas plantas aromáticas evidenciam que a composição química destes óleos está diretamente relacionada ao seu potencial diante às pragas (CALMASUR, 2006). Por isso, o crescente interesse pela busca de novos produtos, com atividade acaricida, tem motivado a procura de produtos alternativos aos acaricidas convencionais a partir dos diferentes biomas do Brasil.

Entre os principais biomas do Brasil, destacam-se os brejos de altitudes, o semi-árido, as pouquíssimas áreas de restinga, o cerrado e os fragmentos de mata atlântica.

Como exemplos de fragmentos de mata atlântica, temos aqui em Pernambuco, o fragmento de floresta ombrófila (úmida) densa localizadas no município de Igarassu-PE, conhecida como mata de Cruzinha e o da fazenda do Sinhozinho Cabral no município de Camocim de São Felix – PE. Como exemplo do

bioma cerrado, temos as áreas de elevado gradiente latitudinal localizado no Distrito Federal, Brasília, localizado no centro do Brasil.

Nesses dois biomas é possível encontrar uma grande variedade de plantas aromáticas, cujo potencial químico e biológico de seus óleos essenciais são completamente desconhecidos. Entre as espécies dessas regiões, destacam-se, pela alta produção de óleo essencial, as espécies pertencentes ao gênero *Ocotea* e *Eugenia*.

1.1. Família Lauraceae e o gênero *Ocotea*.

Composta por 52 gêneros e aproximadamente 3.000 espécies (TAKAKU *et al.*, 2007; WERFF, 2003). A família Lauraceae possui distribuição tropical, sendo bem representada nas Américas, Ásia tropical, Austrália, no sul da África e em Madagascar (ROHWER, 1993).

Dos 52 gêneros que constitui a família Lauraceae, 19 ocorrem no Brasil e somam mais de 390 espécies que habitam, em sua maior parte, as florestas ombrófilas, restingas e os cerrados (BAITELLO *et al.*, 2003).

Um dos gêneros mais estudados da família Lauraceae é o das *Ocotea*. O gênero apresenta cerca de 350 espécies, compreendendo árvores e arbustos. Essas espécies, em sua grande maioria encontram-se distribuídas nas Américas tropicais e subtropicais (ROHWER, 1993). As espécies do gênero têm como principais características folhas alternas, raramente opostas, flores monoclinas ou diclinas, com fruto do tipo baga sobre cúpula desenvolvida (COUTINHO *et al.*, 2006).

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

De acordo com o levantamento bibliográfico feito no banco de dados SciFinder (Chemical Abstract) no dia 23 de novembro de 2011, usando como palavra-chave o termo: “*Ocotea*” seguido de “Essential Oil”, foram encontrados 64 artigos referentes aos relatos de composição química de óleos essenciais de espécies do gênero *Ocotea*.

Com base no levantamento para composição química do óleo de espécies do gênero *Ocotea*, os locais onde as espécies foram coletadas para estudo restringem-se a apenas seis países: Brasil, Costa Rica, Islândia, Equador, Cuba e Colômbia. Os estudos com espécies de *Ocotea* coletadas no Brasil são relatados nos estados da Paraíba, Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro e Amazônia.

Levando em consideração o conteúdo dos artigos 32% 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 do óleo essencial (folhas, flores, raízes, caule e frutos) variaram de planta para planta, sendo as folhas (39%) as mais exploradas.

No total, 29 espécies diferentes do gênero *Ocotea* têm sido investigadas quanto à composição e/ou potencial biológico do óleo essencial. Referente à composição química dos óleos essenciais, 46 compostos diferentes são encontrados com percentual igual ou superior a 5%. A classe química dos sesquiterpenos (55%) é predominante, entre os compostos encontrados com percentual superior 5%, dentre eles os principais são o Germacreno D e o β -cariofileno presentes na composição química de dez espécies diferentes (Figura 2). A classe química dos monoterpenos (35,6%) tem como principal representante o α -pineno encontrado em dezoito espécies diferentes, sendo assim o composto encontrado no maior número

de espécies do gênero. O β -pineno é identificado em nove espécies diferentes. Os fenilpropanóides representam 9,1% dos compostos encontrados com percentual superior a 5%.

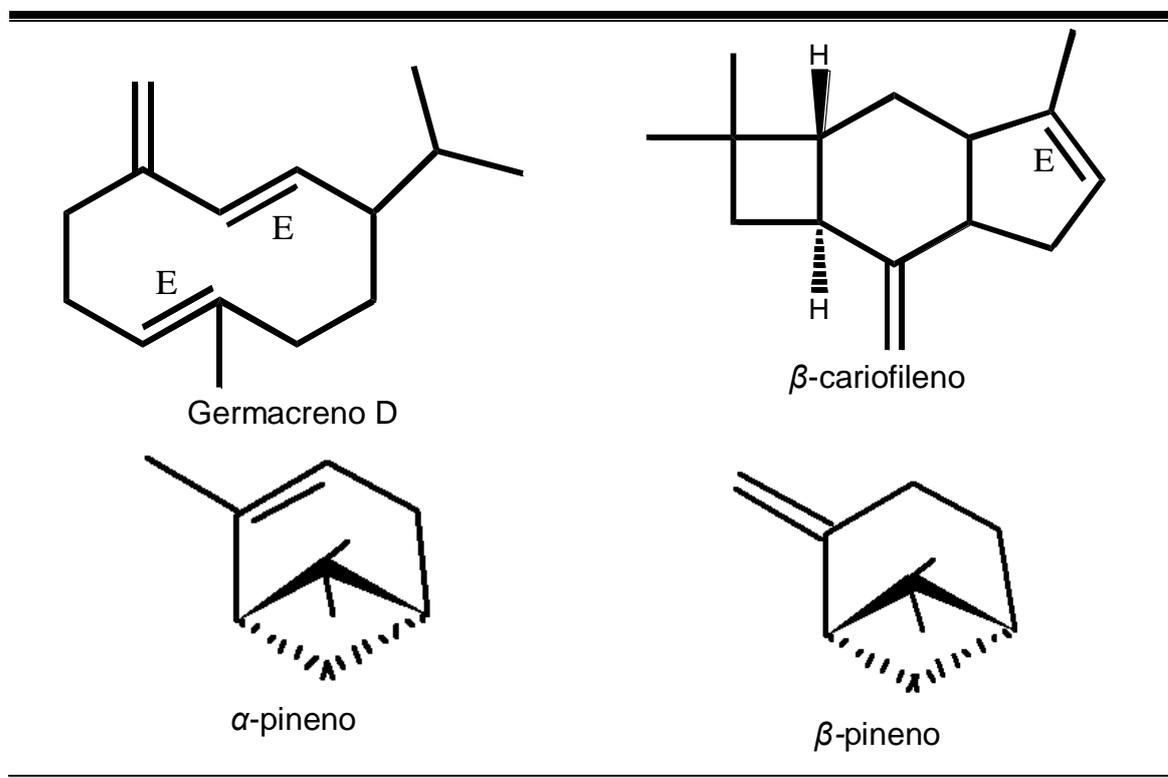


Figura 2. Principais compostos identificados nos óleos de espécies do gênero *Ocotea*.

Do total de artigos 68% 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 antioxidante, antimicrobiano, moluscicida, citotóxica, inseticida, hipotensão arterial, anti-chagásico, antitumoral, anticoagulante, antiplaquetário e antiinflamatório. Desta a mais explorada foi a atividade antimicrobiana, contra bactérias patógenas de gram

positivo e negativo, fungos e leveduras representando cerca de 10% do total de artigos.

O estudo inseticida com o óleo essencial das folhas da espécie *O. comoriensis* coletadas na Islândia foi direcionado as larvas do *Aedes aegypti* (mosquito transmissor da dengue) que obteve atividade com concentrações acima de 125ppm (MENUT *et al.*, 2002) enquanto que a atividade inseticida do óleo essencial das partes aéreas da *O. odorífera* sobre a praga de grãos armazenados *Alphitobius diaperinus* apresentou uma CL₅₀ igual a 0,26mL/L para insetos adultos e 0,12 mL/L para as larvas (PINTO-JUNIOR *et al.*, 2010).

1.1.2. Espécies do gênero *Ocotea* selecionada para o estudo.

Ocotea dukei Vattimo. Gil (Figura 3) é uma espécie vegetal encontrada em matas atlânticas do Nordeste brasileiro, popularmente conhecida como louro de cheiro, louro pimenta e louro-canela. Quando adulta a espécie chega, em media, a 10m de altura (COUTINHO *et al.*, 2006).



Figura 3 *Ocotea dukei* Vattimo. Gil

Estudos químicos da planta relatam a presença de alcalóides (DIAS *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2002; MORAIS *et al.* 1998a), lignanas (MORAIS *et al.*, 1996; MORAIS *et al.*, 1998b; MORAIS *et al.*, 1999; BARBOSA-FILHO *et al.* 1999) e óleos essenciais (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2008). Contudo a espécie é conhecida principalmente por ser a principal fonte da lignana iangambina (Figura 4), responsável por propriedades farmacológicas como analgésico, antialérgico (SALEEM *et al.*, 2005, SERRA *et al.*, 1997), antitumoral (HAUSSOT *et al.*, 2003), anti-leishmaniose (MONTE-NETO *et al.*, 2007), antagonista seletivo do receptor de ativação das plaquetas (PAF) (CASTRO-FARIA-NETO *et al.*, 1995ab ; HERBERT *et al.*, 1997) e antimicrobiano (ANTUNES *et al.*, 2006).

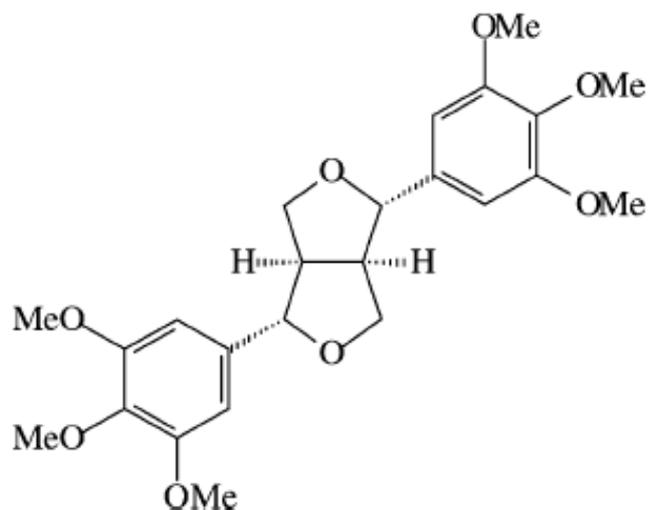


Figura 4 Estrutura da iangambina

A espécie *Ocotea glomerata* Mez. (Figura 5) é popularmente conhecida por caneleira, louro-branco, louro-abacate e louro-bravo. Na fase adulta a espécie chega a medir 12m de altura. Sua ocorrência é relatada na Venezuela, Peru, Guiana, Guiana Francesa, Trinidad-Tobago e Brasil, com registros nos estados do Amazonas, Bahia, Maranhão, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Roraima, Ceará, Sergipe, Tocantins e Pernambuco (MORAES, 2005). A espécie é encontrada em matas atlânticas tropicais úmidas não inundadas. Até o momento não há relatos na literatura de trabalho fitoquímico com a espécie.



Figura 5 *Ocotea glomerata* Mez.

1.2. Família Myrtaceae e o gênero *Eugenia*.

A família Myrtaceae compreende 121 gêneros com aproximadamente 4620 espécies, encontradas principalmente em regiões tropicais (STEFANELLO *et al.* 2011; JOTHI *et al.*, 2009). As espécies da família dividem-se entre árvores e arbustos aromáticos, que freqüentemente produzem frutos comestíveis. *Eugenia* é o principal gênero da família compreendendo cerca de 350 espécies (FISCHER *et al.*, 2005). Várias espécies do gênero são utilizada na medicina popular, principalmente como antidiarréico, antioxidante, antimicrobiana, purificadores, anti-reumáticos, e agente antiinflamatório (STEFANELLO *et al.*, 2011).

1.2.1. 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 05 de dezembro de 2011, usando como palavra-chave o termo: “*Eugenia*” seguido de “Essential Oil”, foram encontrados 85 artigos referentes aos relatos de óleos essenciais de espécies do gênero *Eugenia*.

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 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, anti-colinesterase, antiinflamatório, antioxidante, antimicrobiano, citotóxica, hipoglicêmico, inseticida, acaricida. Destes o estudo mais explorado foi o antimicrobiano.

O estudo inseticida com as folhas da espécie *E. triquetra* coletados na Venezuela foi direcionado a medicina humana, referentes ao *A. aegypti* 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* têm sido investigadas 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 25 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.

1.2.2. Espécie do gênero *Eugenia* selecionada para o estudo.

Eugenia langsdorffii O. Berg. (Figura 6) é uma das espécies mais representativa no bioma cerrado. A espécie trata-se de um arbusto baixo de aproximadamente 40cm de altura, com muitos brotos em crescimento a partir de um xilopódio (fruto semelhante a uma núcula sem cúpula, formado sobre um pedúnculo carnoso tal como a castanha-de-caju).



Figura 4 *Eugenia langsdorffii* O. Berg.

1.3. Objetivos

1.3.1. Geral

Investigar os constituintes químicos dos óleos essenciais obtidos das folhas de duas espécies do gênero *Ocotea* (Lauraceae) e dos frutos e folhas da espécie *Eugenia langsdorffii* bem como avaliar a ação acaricida desses óleos e de seus constituintes (de forma isolada e na forma de blenda) sobre o *T. urticae*.

1.3.2. Específicos

- Obter os óleos essenciais folhas das espécies *O. glomerata*, *O. duckeie* e folhas e frutos da espécie *E. langsdorffii* através da técnica de hidrodestilação e mensurar seus rendimentos.
- Identificar os constituintes químicos dos óleos essenciais através da técnica de Cromatografia gasosa (CG) e Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM)
- Avaliar a ação letal (por fumigação e contato residual) dos óleos essenciais e dos seus constituintes (de forma individual e na forma de blendas) sobre o *T. urticae*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos (LPNBio) do Departamento de Ciências Moleculares da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) em parceria com o Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia da UFRPE. As análises químicas dos óleos essenciais foram realizadas no Centro de Apoio a Pesquisa (CENAPESQ) da UFRPE e na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

2.1. Coleta do material botânico

As espécies do gênero *Ocotea* foram coletadas em dois fragmentos de Mata Atlântica de Pernambuco.

Na mata ombrófila densa, conhecidas por Mata de Cruzinha situado na Usina São José no município de Igarassu no dia 26 de março de 2008 foi coleta da espécie *O. glomerata* (coordenada geográfica = S 08°20'04.3" W 035° 47'06.5") identificada pelo Dr. Henrique Costa Hermenegildo da Silva do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca. Uma amostra vegetal da espécie foi prensada para montagem da exsicata que foi incorporada ao acervo do Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho da UFRPE com o número de registro 49645.

Na mata Sinhozinho Cabral localizada no município de Camocim de São Félix no dia 26 de setembro de 2010 foi coletada a espécie *O. duckei* (coordenada geográfica = S 07°58'41.2" W 034° 50'21.4"). Identificada pela Dra. Maria Rita Cabral

Sales de Melo do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Uma amostra vegetal da espécie foi prensada para montagem da exsicata que foi incorporada ao acervo do Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho da UFRPE com o número de registro 72251. As coordenadas geográficas foram registradas com um aparelho GPS (Global Position System), modelo Garmin Etrex vista.

O método utilizado na preparação das exsicatas das plantas coletadas foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Mori e colaboradores (1989).

As folhas e frutos da espécie *E. langsdorffii* foram coletados no campus Universidade de Brasília, Distrito Federal, entre 8 e 9 horas da manhã do dia 15/04/2011 em uma vegetação de cerrado a uma altitude de 1030m. Uma espécime foi depositada no herbarium UnB (Universidade de Brasília) onde recebeu a designação J.E.Q. Faria Jn & Fagg C.W. 918, uma duplicata foi enviada para o herbarium da Universidade Estadual de Goiás (UEG). A planta foi identificada pelo estudante de Doutorado Eustáquio Quintinode Faria Junior sob a supervisão do Dr. Carolyn Proença do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília.

2.2. Obtenção dos óleos essenciais

Para a obtenção dos óleos essenciais, folhas das espécies de *Ocotea* e folhas e frutos da *E. langsdorffii* foram separadamente trituradas com água destilada e submetidas à hidrodestilação utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado. Devido à diferença de densidade, os óleos foram separados da água, secos com sulfato de sódio anidro e armazenados a $\pm 5^{\circ}\text{C}$ em frascos de vidro vedados, antes da análise química e de serem utilizados nos experimentos. Após 2 horas uma

alíquota do óleo essencial é recolhida e o seu rendimento é realizado com base na massa do material fresco, todo experimento foi realizado em triplicata.

2.3. Padrões químicos

Todos monoterpenos (α -pineno, β -pineno, *p*-cimeno, (R)-limoneno, terpinoleno, terpinen-4-ol e α -terpineol), sesquiterpenos (β -cariofileno, aromadendreno, α -humuleno e valenceno) e o controle positivo (eugenol) (Figura 7) usados na identificação do óleo essencial e nos experimentos acaricidas foram comprados na Sigma-Aldrich-Brasil. Todos com grau de pureza entre 95-99%

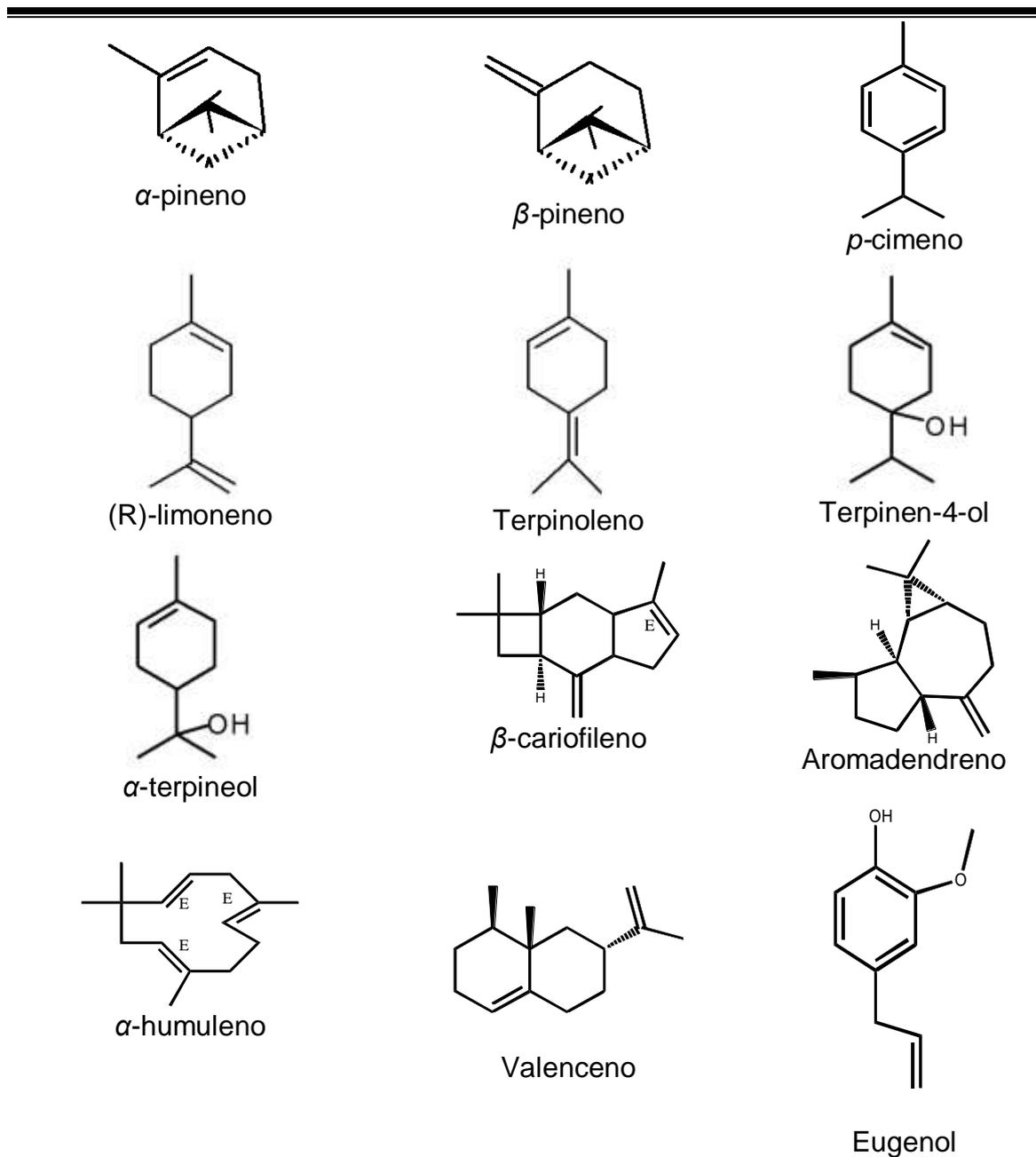


Figura 7. Estrutura química dos compostos usados na identificação do óleo essencial e nos experimentos acaricidas.

2.4. Identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais por Cromatografia gasosa (CG) e Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM).

A análise cromatográfica por CG foi feita na Central Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Realizada em um Hewlett Packard 5890 SERIES equipado com detector de ionização (FID) e J & W Scientific DB-5 com coluna de capilaridade com sílica (30m x 0,25mm x 0,25µm). A temperatura da coluna foi programada para 60°C até 240 à 3°C min⁻¹. As temperaturas do injetor e detector foram de 240°C e 260°C, respectivamente. O hidrogênio foi usado como carreador gasoso, com um fluxo de 1,0 mL min⁻¹, (1:10). Uma solução de 1,5 µL de aproximadamente 10 mg do óleo em acetato de etila foi usada para injeção de 0,1 µL no CG . O índice de retenção foi obtido aplicando uma amostra do óleo com mistura de hidrocarbonetos lineares C₁₁-C₂₄ (índice de retenção variando de 850 à 2199, esta variação foi obtida por extrapolação). A análise qualitativa do óleo foi feita no Centro de Apoio a Pesquisa (CENAPESQ) usando CG/EM Varian 220-MS It Mass Spectrometer equipado com a mesma coluna e utilizando as mesmas temperaturas utilizadas no experimento com CG. O carreador gasoso foi o hélio, fluxo de 1,0 mL min⁻¹, (1:30). Foi feita uma aplicação de hexano. O espectro de massa foi obtido à 70eV. A velocidade de leitura de 0.5 scans⁻¹ de m/z 40 à 650. A identificação dos óleos foi feita com base na comparação dos índices de retenção (VAN DEN DOLL e KRATZ, 1963), por comparação computadorizada do espectro de massa obtido com aqueles contidos na biblioteca de espectro de massas do NIST bem como por comparação com a literatura (ADAMS, 2007).

2.5. Rotação óptica dos óleos essenciais

A rotação óptica dos óleos essenciais foi realizada em um polarímetro digital (A. Kruss model Px800, West Germany) em 589nm e a 26°C em uma solução em diclorometano (100 mg/mL).

2.6. Criação do *Tetranychus urticae*

O *T. urticae* 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 horas. 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 *T. urticae* originárias da criação.

2.7. Bioensaio de Fumigação

A metodologia utilizada para os experimentos de fumigação seguiu a metodologia de Pontes e colaboradores (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 equidistantes 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 *T. urticae*. Cada placa de Petri foi colocada em uma câmara de fumigação, resultando em 30 ácaros por câmara de fumigação. Os óleos essenciais, os constituintes majoritários e as blendas foram separadamente 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 $31 \mu\text{L/L}$ de ar, de acordo com a atividade obtida. No controle nada foi aplicado. O 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 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_{50}) estimadas utilizando-se o programa POLO - PC (LEORA, 1987). A metodologia de Robertson e Preisler (1992) foi utilizada para o cálculo das razões de toxicidade, com seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

2.8. Bioensaio de Contato Residual

O método de “pincelagem” em disco de folha descrito por Miresmailli e Isman (2006) foi usado para avaliar a toxicidade de contato dos óleos essenciais e dos constituintes majoritários. Foram utilizados discos de folha de feijão-de-porco com 2,5cm. As concentrações utilizadas variaram de 0,1 a $600 \mu\text{L/mL}$, sendo as soluções preparadas através da diluição dos óleos, compostos puros e blendas em metanol.

Uma alíquota de 20 μ L de cada concentração dos óleos essenciais, dos constituintes e das blendas foi aplicado com uma pipeta automática, sobre um disco de folha e espalhado com o auxílio de um bastão de vidro. 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 *T. urticae* foram transferidas para cada disco de folha. A mortalidade foi determinada após 24 horas 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 metanol. 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 resultados obtidos foram submetidos à análise de Probit e as concentrações que matam 50% da população de *T. urticae* (CL₅₀) foram estimadas utilizando-se o programa POLO - PC (LEORA, 1987). A metodologia de Robertson e Preisler (1992) foi utilizada para o cálculo das razões de toxicidade, com seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição química e atividade acaricida dos óleos essenciais das folhas das duas espécies do gênero *Ocotea*

3.1.1. Determinação dos constituintes químicos do óleo de *Ocotea duckei* e *Ocotea glomerata*.

A tabela 1 apresenta os rendimentos dos óleos, rotação específica e os compostos identificados na ordem crescentes de eluição em uma coluna capilar de natureza apolar (DB-5, 30m) das espécies do gênero *Ocotea*. Os rendimentos dos óleos das folhas obtidos através da técnica de hidrodestilação foram $0,6\pm 0,0\%$ a $0,8\pm 0,1\%$ para as espécies *O. duckei* e *O. glomerata*, respectivamente. O rendimento observado para *O. duckei* está de acordo com o reportado por Barbosa-Filho e colaboradores (2008), referente a uma amostra coletada no município de Santa Rita, Paraíba. Já a espécie *O. glomerata* não existe relatos na literatura de trabalhos realizados com seu óleo essencial.

Na tabela 1 é apresentada a rotação óptica dos dois óleos essenciais das espécies de *Ocotea*. As rotações ópticas observadas foram de $-8,9^\circ$ e $-19,1^\circ$ para os óleos de *O. duckei* e *O. glomerata*, respectivamente. Este resultado pode ser justificado observando a rotação específica de alguns constituintes presentes nos óleos como o β -cariofileno (majoritário no óleo da *O. duckei* e segundo majoritário no óleo da *O. glomerata*) que tem uma rotação específica de $-10,0^\circ$ (pureza de 98,5%), β -pinene ($[\alpha]_D^{22} = -22^\circ$ a 97% de pureza), terpinen-4-ol ($[\alpha]_D^{22} = -25,6^\circ$ a 98,5% de pureza), dehidro-aromadendreno ($[\alpha]_D^{22} = -33,0^\circ$ a 98,% de pureza) globulol ($[\alpha]_D^{22} = -25,6^\circ$ a 98,5% de pureza) que apresentam uma rotação específica negativa. Por outro lado, a presença de alguns compostos identificados nos óleos como o

valenceno ($[\alpha]_D^{22} = +90,0^\circ$ a 98,% de pureza, identificado como segundo majoritário no óleo da *O. duckei*) e o aromadendreno ($[\alpha]_D^{22} = + 12,1^\circ$ a 98,% de pureza, identificado como majoritário no óleo da *O.glomerata*) também influenciam no resultado líquido da rotação observada pelo óleos, isto é, os acréscimos ou decréscimos no valor da rotação é devido a estes e a outros compostos presentes no óleo.

Nos óleos analisados por CG/EM, um total de 67 compostos foram identificados, representando um percentual de $97,3\pm 0,3$ e $97,8\pm 0,5\%$ da composição química dos óleos de *O. duckei*, e *O. glomerata*, respectivamente. Os óleos das duas espécies revelaram um perfil químico de natureza terpênica, com predominância de compostos da classe dos sesquiterpenos.

Tabela 1. Rendimento, rotação específica e percentual relativo dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das espécies do gênero *Ocotea*.

Composto	I.R^a	I.R^b	<i>O. duckei</i>	<i>O. glomerata</i>	Método de identificação
Rendimento (%) ±DP			0,6±0,0	0,8±0,1	
$[\alpha]_D^{26}(c.=1,CH_2Cl_2)$			-8,9°	-19,1°	
Artemisia trieno	920	923	-	0,6±0,0	IR, EM
α -pineno	928	932	2,5±0,1	6,9±0,1	IR, EM, CI
Verbeneno	957	961	0,3±0,0	-	IR, EM
Sabineno	965	969	0,3±0,0	-	IR, EM
β -pineno	970	974	5,2±0,0	-	IR, EM, CI
Mirceno	985	988	5,6±0,0	-	IR, EM

α -felandreno	999	1002	-	0,4 \pm 0,0	IR, EM
<i>iso</i> -silvestreno	1006	1008	-	1,1 \pm 0,0	IR, EM
<i>p</i> -cimeno	1017	1020	-	4,9 \pm 0,0	IR, EM, CI
(R)-limoneno	1024	1024	1,1 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	IR, EM, CI
γ -terpineno	1050	1054	0,7 \pm 0,0	6,4 \pm 0,0	IR, EM
<i>m</i> -cimeno	1081	1082	0,7 \pm 0,0	-	IR, EM
Terpinoleno	1084	1086	-	2,1 \pm 0,1	IR, EM, CI
<i>trans</i> -pineno	1119	1119	0,1 \pm 0,0	-	IR, EM
Terpinen-4-ol	1168	1174	-	0,4 \pm 0,0	IR, EM, CI
α -terpineol	1188	1186	0,3 \pm 0,0	-	IR, EM, CI
<i>iso</i> -mentil acetato	1308	1304	2,0 \pm 0,0	-	IR, EM

δ -elemeno	1335	1335	-	0,3±0,0	IR, EM
α -cubebeno	1340	1345	-	1,2±0,0	IR, EM
α -Terpinil acetato	1350	1346	1,4±0,0	-	IR, EM
Ilangeno	1370	1373	-	0,3±0,0	IR, EM
α -copaeno	1372	1374	1,2±0,0	-	IR, EM
β -cubebeno	1388	1387	1,8±0,0	-	IR, EM
β -bourboneno	1390	1387	0,1±0,0	3,1±0,0	IR, EM
β -elemeno	1384	1389	-	0,3±0,0	IR, EM
β -cariofileno	1415	1417	18,1±0,1	14,6±0,3	IR, EM, CI
β -duprezianeno	1418	1421	-	0,6±0,0	IR, EM
β -copaeno	1428	1430	-	0,3±0,0	IR, EM

β -gurjuneno	1431	1431	-	0,5 \pm 0,0	IR, EM
Aromadendreno	1437	1439	0,5 \pm 0,0	17,3 \pm 0,6	IR, EM, CI
Prezizaeno	1443	1444	-	1,9 \pm 0,0	IR, EM
α -humuleno	1455	1452	2,2 \pm 0,0	-	IR, EM, CI
Dehidro-Aromedendreno	1457	1460	3,0 \pm 0,0	-	IR, EM
Cumacreno	1466	1470	4,7 \pm 0,1	-	IR, EM
Germacreno D	1480	1484	-	2,1 \pm 0,0	IR, EM
β -selineno	1483	1489	-	2,3 \pm 0,1	IR, EM
δ -Selineno	1489	1492	1,5 \pm 0,0	-	IR, EM
γ -amorfeno	1490	1495	-	1,6 \pm 0,0	IR, EM
Valenceno	1496	1496	17,6 \pm 0,0	-	IR, EM, CI

α -muroleno	1501	1500	1,9 \pm 0,0	2,1 \pm 0,0	IR, EM
Biciclogermacreno	1504	1500	2,7 \pm 0,0	5,8 \pm 0,2	IR, EM
β -bisaboleno	1507	1505	0,2 \pm 0,0	-	IR, EM
δ -amorpheno	1511	1511	-	1,1 \pm 0,0	IR, EM
δ -cadineno	1520	1522	0,6 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	IR, EM
Zonareno	1525	1528	-	2,0 \pm 0,0	IR, EM
α -cadineno	1535	1537	-	4,0 \pm 0,1	IR, EM
α -calacoreno	1545	1544	-	2,8 \pm 0,0	IR, EM
Elemol	1550	1548	6,8 \pm 0,0	-	IR, EM
<i>Trans</i> -Dauca-4(11), 7-dieno	1557	1556	2,4 \pm 0,0	-	IR, EM
Maliol	1562	1566	-	0,2 \pm 0,0	IR, EM

Longipinanol	1563	1567	-	0,8±0,0	IR, EM
Palustrol	1564	1567	-	0,4±0,0	IR, EM
Cariofilene alcool	1568	1570	-	0,6±0,0	IR, EM
α -epóxido de cedreno	1572	1574	1,0±0,0	-	IR, EM
Espatulanol	1574	1577	0,6±0,0	3,6±0,1	IR, EM
Tujopsan-2- β -ol	1586	1588	0,6±0,0	-	IR, EM
Globulol	1590	1590	1,1±0,0	-	IR, EM
Viridiflorol	1595	1592	-	2,8±0,0	IR, EM
Rosifoliol	1603	1600	-	0,7±0,0	IR, EM
Ledol	1607	1602	0,7±0,0	-	IR, EM
<i>Trans</i> -isolongifolano	1626	1625	-	0,5±0,0	IR, EM

α -murolol	1642	1644	5,6 \pm 0,0	-	IR, EM
Cubenol	1647	1645	-	1,3 \pm 0,0	IR, EM
Cadinol	1649	1652	3,6 \pm 0,0	-	IR, EM
α -eudesmol	1650	1652	0,6 \pm 0,0	-	IR, EM
Acetato de elemol	1675	1680	0,9 \pm 0,0	-	IR, EM
Amorfa-4,9-dien-2-ol	1703	1700	0,1 \pm 0,0	-	IR, EM
Esclareolido	2060	2065	0,1 \pm 0,0	-	IR, EM
<hr/>					
<i>Monoterpenos</i>			16,2 \pm 0,1	24,5 \pm 0,1	
<i>Monoterpenos oxigenados</i>			4,7 \pm 0,0	0,4 \pm 0,0	
<i>Sesquiterpenos</i>			56,2 \pm 0,3	61,4 \pm 0,6	
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>			20,3 \pm 0,0	11,4 \pm 0,1	

Total

97,3±0,3

97,8±0,5

^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.

A composição química descrita na tabela 1 para as os óleos essenciais das espécies de *Ocotea*, estão de acordo com a literatura, que relata para os óleos essenciais das espécies desse gênero, principalmente os obtidos a partir de matriz foliar, são constituídos por hidrocarbonetos sesquiterpênicos (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2008; COUTINHO *et al.*, 2007; TAKAKU *et al.*,2007; BALABENI *et al.*,2007; CHAVERRI e CICCIO, 2007; SETZER *et al.*, 2006).

Dos 37 compostos identificados no óleo da *O. duckei*, um total de 27 (76,5±0,3%) pertencem a classe química dos sesquiterpenos. O β -cariofileno (18,1±0,1%) seguido do valenceno (17,6±0,0%) foram identificados como os constituintes principais no óleo. A figura 8 apresenta o cromatograma do óleo essencial das folhas de *O. duckei* com as estruturas dos constituintes principais.

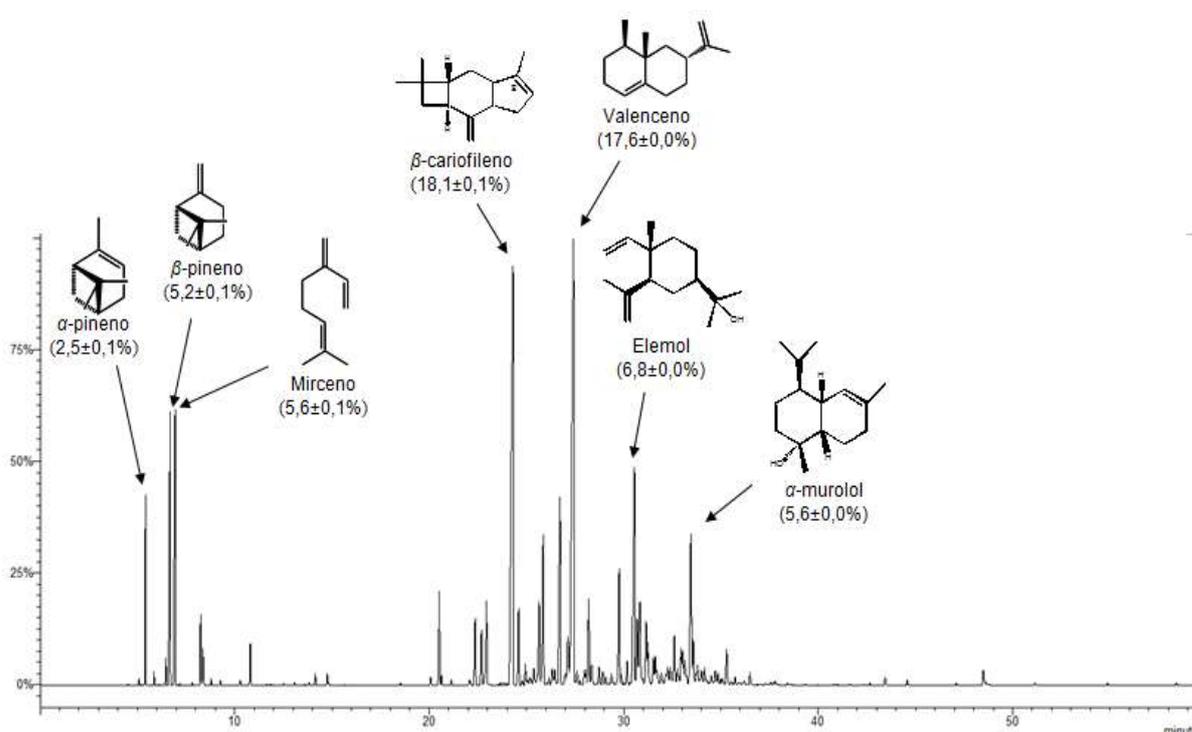


Figura 8. Cromatograma do óleo essencial das folhas da espécie *Ocotea duckei*, com as estruturas dos constituintes majoritários.

Na classe dos monoterpenos, 12 compostos diferentes foram identificados, representando 20,9±0,1% do óleo. Entre os monoterpenos identificados, α -pineno

(2,5 ±0,1%), β -pineno (5,2 ±0,0%), mirceno (5,6±0,0%) e (R)-limoneno (1,1±0,0%) são relatados na literatura em percentuais >7% no caule e frutos da espécie coletada na Paraíba (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2008).

Comparando nossos resultados com os reportados por Barbosa-Filho e colaboradores (2008) para o óleo das folhas da *O. duckei*, constata-se que ambas as amostras são constituídas apenas por monoterpenos e sesquiterpenos. Entre os monoterpenos a amostra da Paraíba apresentou apenas α -pineno (0,6%) enquanto que em nossa análise, além desse monoterpeno, outros foram identificados representando um percentual bem mais significativo (20,9±0,1%).

A nossa análise possibilitou a identificação de 97,3±0,3% do óleo contra apenas 74,77% da amostra da Paraíba. Apesar de apresentarem o β -cariofileno como constituinte majoritário, o percentual desse sesquiterpeno identificado na amostra da Paraíba foi cerca de 3 vezes maior do que em nossa análise. O sesquiterpeno valenceno identificado como o segundo majoritário em nossa análise não foi identificado no óleo essencial das folhas da amostra da Paraíba.

Essas diferenças na composição química de amostras da mesma espécie coletadas em diferentes localidades, mesmo dentro de uma mesma região, como o Nordeste, deve-se ao fato principalmente das condições de clima, relevo, solo e a variabilidade genética de ambas as amostras (DHARMAGADDA *et al.*, 2005; PONTES *et al.*, 2007a,b; ZSCHOCKE *et al.*, 2000; BRUNI *et al.*, 2004).

A análise do óleo essencial das folhas de *O. glomerata* possibilitou a identificação de 39 compostos diferentes. Os constituintes majoritários identificados no óleo foram os sesquiterpenos aromadendreno (17,3±0,6%) seguido do β -cariofileno (14,6±0,3%). A figura 9 mostra o cromatograma do óleo essencial das folhas de *O. glomerata* e as estruturas dos constituintes principais.

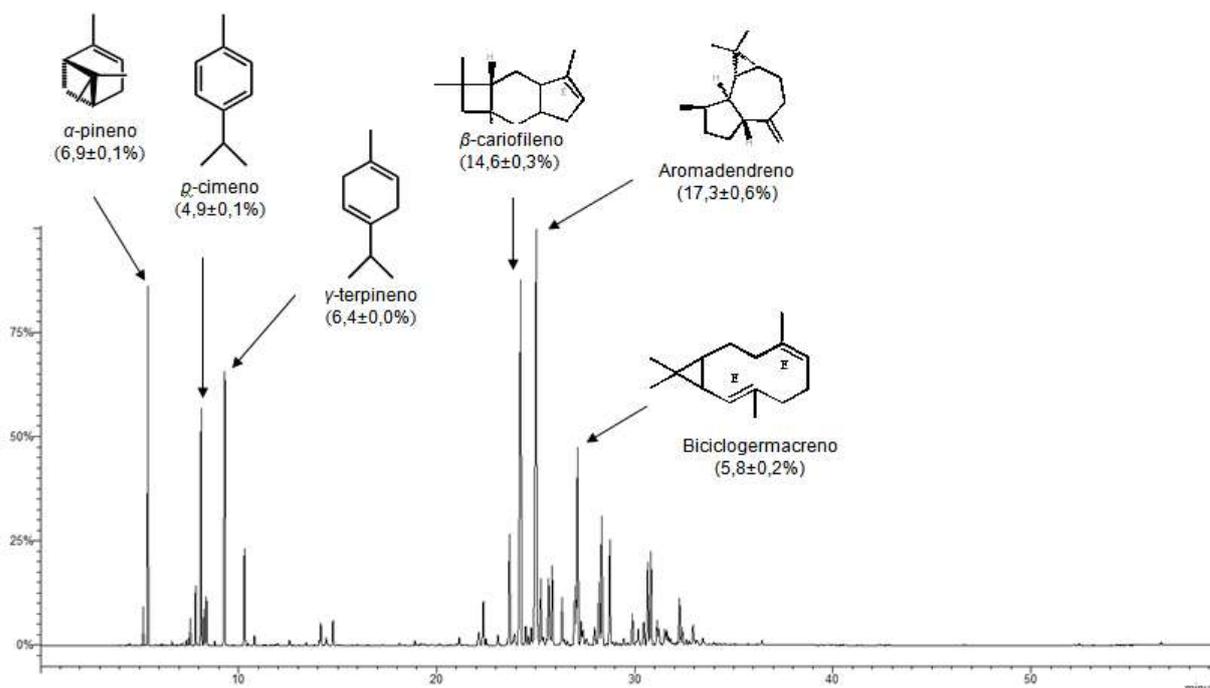


Figura 9. Cromatograma do óleo essencial das folhas da espécie de *Ocotea glomerata*, com as estruturas dos constituintes majoritários.

A presença do sesquiterpeno aromadendreno é relatada nos óleos essenciais de outras espécies do gênero, como no óleo do caule de *O. bracteosa* (COUTINHO *et al.*,2007) e no óleo das folhas de *O. whitei* e *O. "los llanos"* (TAKAKU *et al.*,2007), porém em quantidade inferiores a um percentual de 5%.

Os monoterpenos identificados no óleo representam um percentual de 24,9 \pm 0,1%, tendo o α -pineno (6,9 \pm 0,1%), γ -terpineno (6,4 \pm 0,0%) e o p -cimeno (4,9 \pm 0,0%) como principais representantes da classe.

Este é o primeiro relato da composição química do óleo essencial das folhas de *O. duckei* e *O. glomerata* que ocorrem nos fragmentos da Mata Atlântica em Pernambuco. Esses óleos se caracterizaram pela grande quantidade de sesquiterpenos em sua composição, com destaque para o β -cariofileno, identificado como componente principal em *O. duckei* e segundo constituintes majoritário em *O. glomerata*. Esses dados estão de acordo com os reportados na literatura para outras

espécies do gênero *Ocotea*, em que quantidades significativas desse sesquiterpeno têm sido identificadas no óleo de diferentes partes de espécies congêneres, como por exemplo, nos frutos (15,1%) e folhas (15,1%) de *Ocotea quixos* (BRUNI *et al.*, 2004; SACCHETTI *et al.*, 2006); nas folhas das espécies *O. meiziana* (24,8%) (TAKAKU *et al.*, 2007), *O. dukei* (60,6%) (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2008), *O. whitei* (15,3%) (TAKAKU *et al.*, 2007) e *O. botrantha* (13,4%) (SCORA e SCORA, 2001).

3.1.2. Toxicidade por fumigação e contato residual do óleo essencial de *O. duckei* e *O. glomerata* sobre o *T. urticae*.

Os óleos essenciais da *O. duckei* e *O. glomerata* se mostraram tóxicos ao *T. urticae*. Na figura 10 são mostrados os resultados do óleo essencial da *O. duckei*, da *O. glomerata*, e do controle positivo (eugenol) na mortalidade e na redução da quantidade de ovos do *Tetranychus urticae* após 24 horas de exposição às diferentes concentrações utilizadas nos testes de fumigação e contato residual.

Quanto as atividades fumigante apresentadas por esses óleos, a menor concentração dos óleos que promoveu uma mortalidade acima de 95% foi de 3,2 µL/L de ar (98,8% de mortalidade) para a *O. duckei* e 3,5 µL/L de ar (97,8% de mortalidade) para o óleo da *O. glomerata*. Já o controle positivo promoveu a mortalidade de 97,8% dos ácaros a uma concentração de apenas 1,2 µL/L de ar.

O óleo essencial da *O. duckei* a uma concentração de 0,16 µL/L de ar apresentou uma redução de 28,5% no número de ovos, quando comparados com o controle. Já o óleo da *O. glomerata* só apresentou uma redução no número de ovos a uma concentração cerca de três vezes maior do que a apresentada pela *O. duckei*. O controle positivo promoveu uma redução de 46,2% de ovos em uma concentração de apenas $6,4 \times 10^{-5}$ µL/L de ar.

No experimento de contato residual a menor concentração que promoveu uma mortalidade acima de 95% dos ácaros foi de 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (96,0% de mortalidade) para o óleo da *O. duckei* e 22 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (96,0% de mortalidade) para o óleo da *O. glomerata*. Para o controle positivo a concentração de 5,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ promoveu uma mortalidade de 96,0% do *T. urticae*.

Em relação ao número de ovos ovipositados no experimento de contato residual, o óleo da *O. duckei* a uma concentração de 0,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ apresentou uma redução de 39,4% no número de ovos ovipositados, quando comparados com o controle. Por outro lado, o óleo da *O. glomerata* a uma concentração de 2,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ promoveu uma redução de 50% dos ovos.

Os resultados observados para a quantidade do número de ovos ovipositados pelos ácaros nos dois experimentos sugerem que a exposição dos ácaros a esses óleos não os impedem de ovipositar, mas causam uma drástica redução na fecundidade. A habilidade de reduzir a quantidade de ovos ovipositados pelos ácaros, quando submetidos aos óleos essenciais já tem sido reportada na literatura por Pontes e colaboradores (2007b,c).

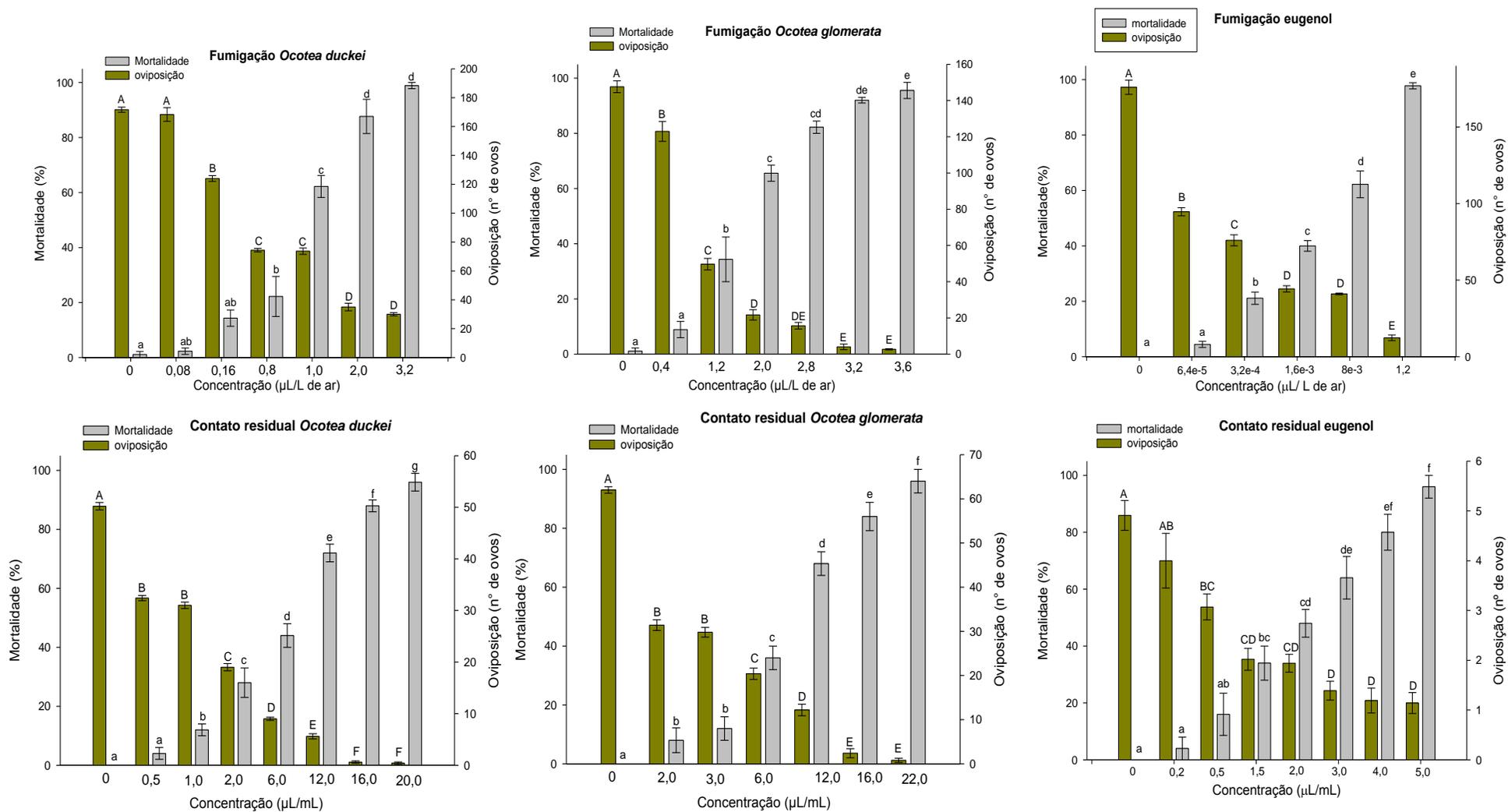


Figura 10. Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos de adultas fêmeas de *T. urticae* em diferentes concentrações. Barras seguidas de mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si. (teste de Tukey a $p = 0,05$).

Com o intuito de comparar as toxicidades relativas apresentadas pelos óleos e o controle positivo, análise de regressão linear foram feitas para obtenção dos valores das concentrações letais médias (CL_{50}). A tabela 2 apresenta as CL_{50} estimadas para as toxicidades por fumigação e contato residual do óleos e do controle positivo. Na fumigação, o óleo da espécie *O. duckei* ($CL_{50} = 0,52 \mu\text{L L}^{-1}$ de ar) foi cerca de 2,5 vezes mais tóxico do que o óleo da *O. glomerata* ($CL_{50} = 1,32 \mu\text{L L}^{-1}$ de ar). No experimento de contato residual o óleo da *O. duckei* ($CL_{50} = 4,68 \mu\text{L/mL}$) também se mostrou mais ativo, sendo 1,5 vezes mais tóxico do que o óleo da *O. glomerata* ($CL_{50} = 7,22 \mu\text{L/mL}$) (Tabela 2). A toxicidade do controle positivo (eugenol), nos experimentos de fumigação foi maior do que a por contato residual. A toxicidade por fumigação do eugenol ($CL_{50} = 0,004 \mu\text{L/L}$ de ar) foi mais de 100 vezes maior do que o óleo da *O. duckei* e da *O. glomerata*. Por outro lado, a toxicidade por contato residual do controle positivo foi apenas 2,5 e 4,0 vezes mais tóxico do que o óleo da *O. duckei* e da *O. glomerata*, respectivamente (Tabela 2). O coeficiente angular da curva de concentração-mortalidade observado para os óleos nos testes indicam um elevado grau de sensibilidade e correlação entre a mortalidade e a concentração do óleo essencial aplicada nos dois testes (Figura 11).

As diferenças nas atividades apresentadas por óleos essenciais de espécies diferentes podem ser resultado da variação qualitativa e quantitativa da composição química destes óleos (CALMASUR, 2006; NEVES e CAMARA 2011; PONTES *et al.*, 2007c; MEDINA-HOLGUÍN *et al* 2008; TOGNOLINI *et al.*, 2006; CHOI *et al.*, 2006; CHAVERRI *et al.*, 2011).

Tabela 2. Toxicidade por fumigação (CL₅₀ em µL/L de ar) e contato residual (CL₅₀ em µL/mL) dos óleos essenciais da *O. duckei*, *O. glomerata* e do eugenol sobre *T. urticae*.

Óleo	N	df	slope	Fumigação CL ₅₀ (IC 95%)	χ ²	RT ₅₀ (IC 95%)
<i>O. duckei</i>	540	4	2,09 (1,94-2,23)	0,52 (0,40-0,67)	5,87	148,78 (74,78 - 196,92)
<i>O. glomerata</i>	540	4	3,10 (2,86-3,34)	1,32 (1,00-1,61)	8,68	374,76 (290,76 - 447,36)
Eugenol	580	5	0,84 (0,72-0,97)	0,004 (0,002-0,008)	2,50	-
Óleo	N	df	slope	Contato residual CL ₅₀ (IC 95%)	χ ²	RT ₅₀ (IC 95%)
<i>O. duckei</i>	175	5	1,89 (1,64-2,11)	4,68 (3,50-6,20)	4,54	2,65 (2,13-3,30)
<i>O. glomerata</i>	150	4	2,99 (2,61-3,37)	7,22 (5,89-8,76)	1,96	4,08 (3,00-5,56)
Eugenol	174	5	2,16 (1,85-2,47)	1,76 (1,22-2,46)	5,59	-

n = Número de ácaros/dose; GL= Grau de liberdade. IC = Intervalo de confiança; χ²= chi-quadrado; RT = Razão de toxicidade.

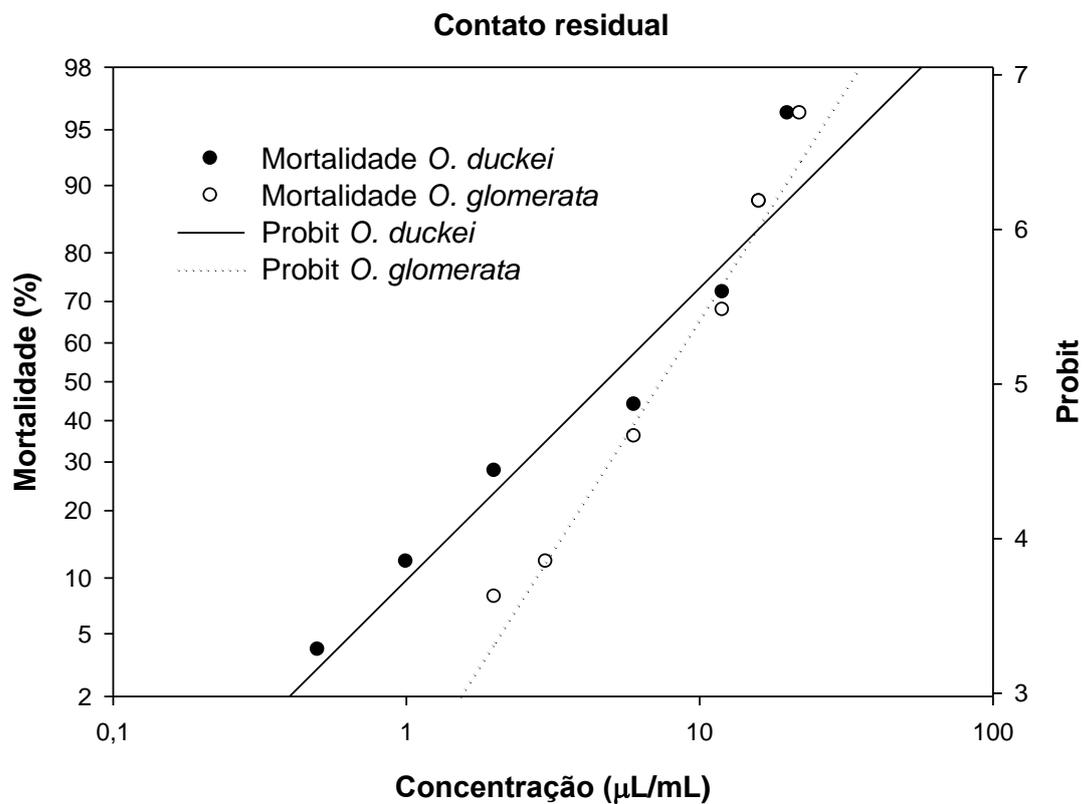
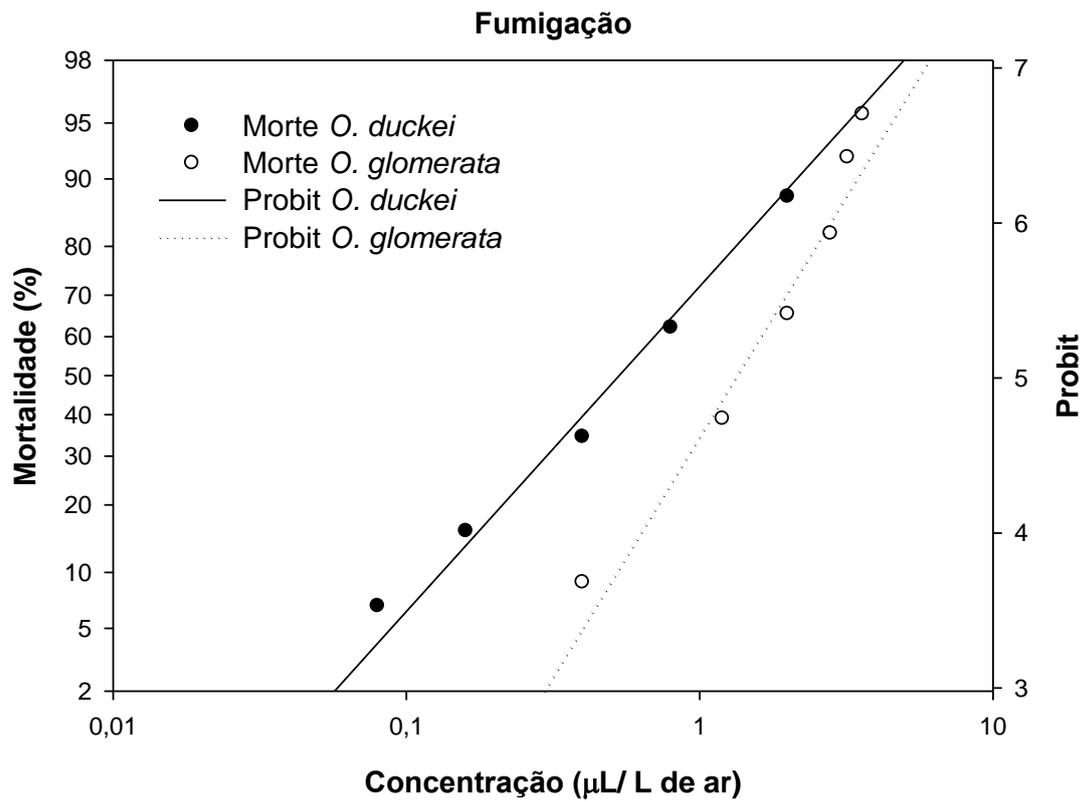


Figura 11. Curva de concentração-mortalidade para fêmeas de *T. urticae* submetidas a fumigação e contato residual dos óleos essenciais de *O. duckei* e *O. glomerata*.

Os resultados obtidos para ambos os métodos para avaliar a toxicidade dos óleos essenciais das espécies de *Ocotea* sobre o *T. urticae*, corroboram a hipótese de que o tipo de bioensaio pode influenciar na susceptibilidade dos ácaros. Fatores como modo de ação (pelos vapores ou por contato e ingestão) e/ou meios de aplicação destes óleos nos distintos métodos empregados (por fumigação ou contato residual) podem promover diferentes susceptibilidades do *T. urticae* a esses óleos testados.

Contudo, estes resultados sugerem que os dois óleos das folhas das espécies de *Ocotea*, testados nesse estudo foram ativos em ambos os experimentos, e que a ação fumigante foi muito mais pronunciada do que por contato residual. Ou seja, os óleos atuam mais pela penetração dos vapores no sistema respiratório dos ácaros (bioensaios de fumigação) do que pela ingestão e/ou penetração através dos tarsos dos ácaros (contato residual).

Ação fumigante observada para os óleos foi confirmada com a realização de experimentos com as câmaras de fumigação abertas, na mesma concentração em que promoveram mortalidade $\geq 96,0\%$, ou seja, $3,2 \mu\text{L/L}$ de ar para o óleo de *O. duckei* e $3,6 \mu\text{L/L}$ de ar para o óleo de *O. glomerata*.

Nessas condições, ambos os óleos apresentaram uma drástica redução na mortalidade dos ácaros ($13,6 \pm 1,0\%$ para o óleo da *O. duckei* e $17,7 \pm 1,3\%$ para o óleo da *O. glomerata*). Como esperado, o eugenol que havia apresentado 100% de mortalidade a $3,2$ e $3,6 \mu\text{L/L}$ de ar, em experimentos com câmara abertas nenhuma toxicidade por fumigação foi observada. Esses resultados sugerem que a ação acaricida do eugenol nessas concentrações e condições de experimentos é volatilizado rapidamente e reduz seu efeito sobre o *T. urticae*.

3.1.3. Toxicidade por fumigação e contato dos constituintes selecionados a partir dos óleos de *Ocotea*.

A fim de investigar o papel dos mono e sesquiterpenos na atividade acaricida (por fumigação e contato residual) observada para os óleos de *Ocotea*, alguns constituintes desses óleos foram selecionados e suas toxicidades foram avaliadas utilizando os mesmos experimentos em que os óleos foram submetidos. Os constituintes selecionados a partir do óleo de *O. duckei* foram: α -pineno, β -pineno, D-limoneno, α -terpineol, β -cariofileno, aromadendreno, α -humuleno e valenceno, enquanto que α -pineno, *p*-cimeno, D-limoneno, terpinoleno, terpinen-4-ol, β -cariofileno e aromadendreno foram selecionados a partir do óleo de *O. glomerata*.

Na fumigação, os compostos que promoveram mortalidade acima de 95% em concentrações igual ou inferior a 4,0 $\mu\text{L/L}$ de ar foram: terpinen-4-ol (95,5% de mortalidade a 0,72 $\mu\text{L/L}$ de ar) seguido do β -cariofileno (97,7% de mortalidade a 2,8 $\mu\text{L/L}$ de ar) e do terpinoleno (95,5% de mortalidade a 4,0 $\mu\text{L/L}$ de ar). Nos demais compostos, mortalidade acima de 95% só foi alcançada em concentrações superiores a 14 $\mu\text{L/L}$ de ar. A figura 12 apresenta os percentuais de mortalidade por fumigação dos constituintes individuais identificados nos resultados dos testes de fumigação realizados com os compostos disponíveis.

Quanto à redução do número de ovos ovipositados, o composto β -cariofileno foi o que mostrou o melhor resultado, sendo necessário uma concentração de apenas $3,2 \times 10^{-4}$ $\mu\text{L/L}$ de ar, do composto, para reduzir 30% dos ovos, quando comparado ao controle.

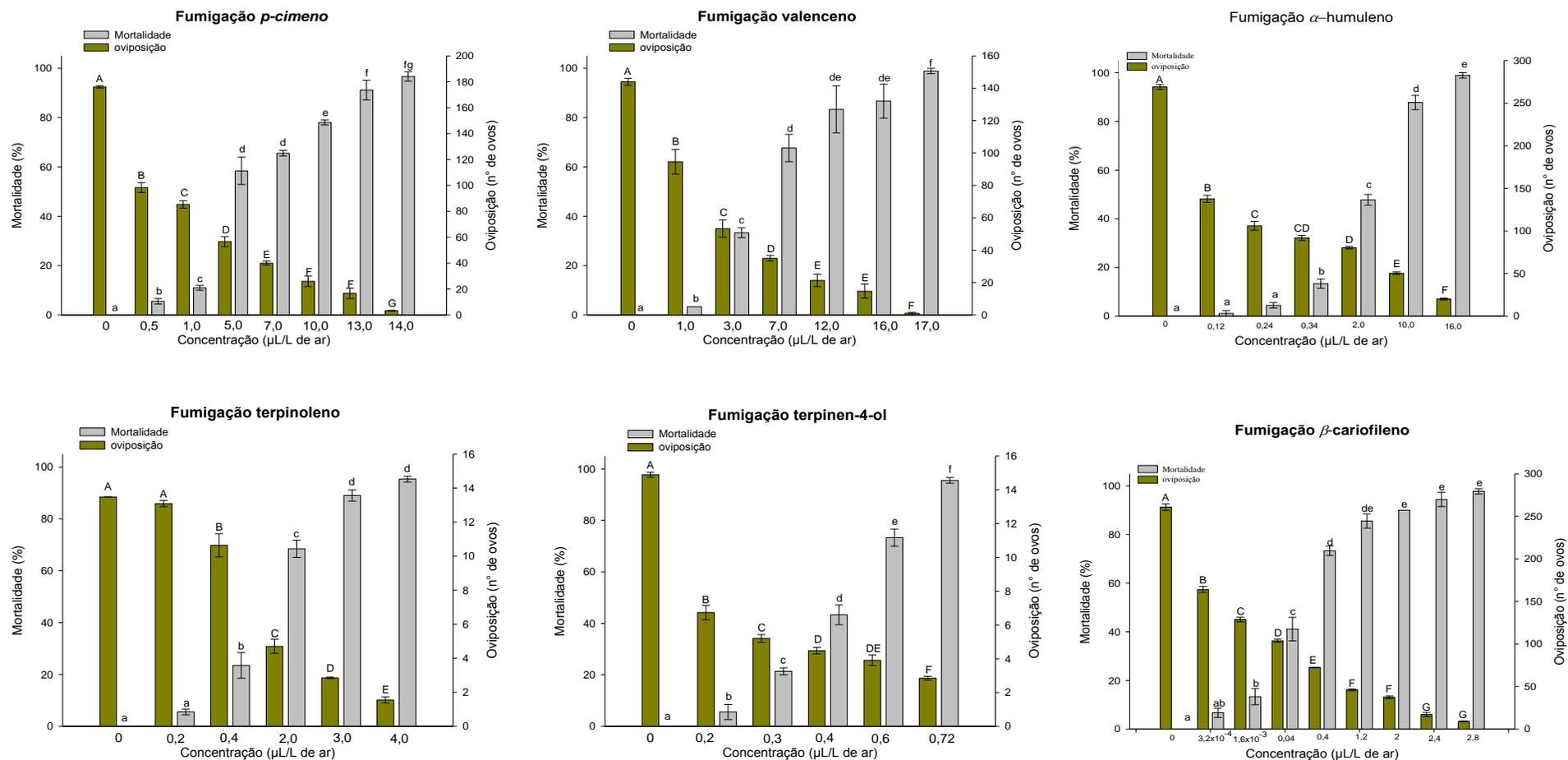
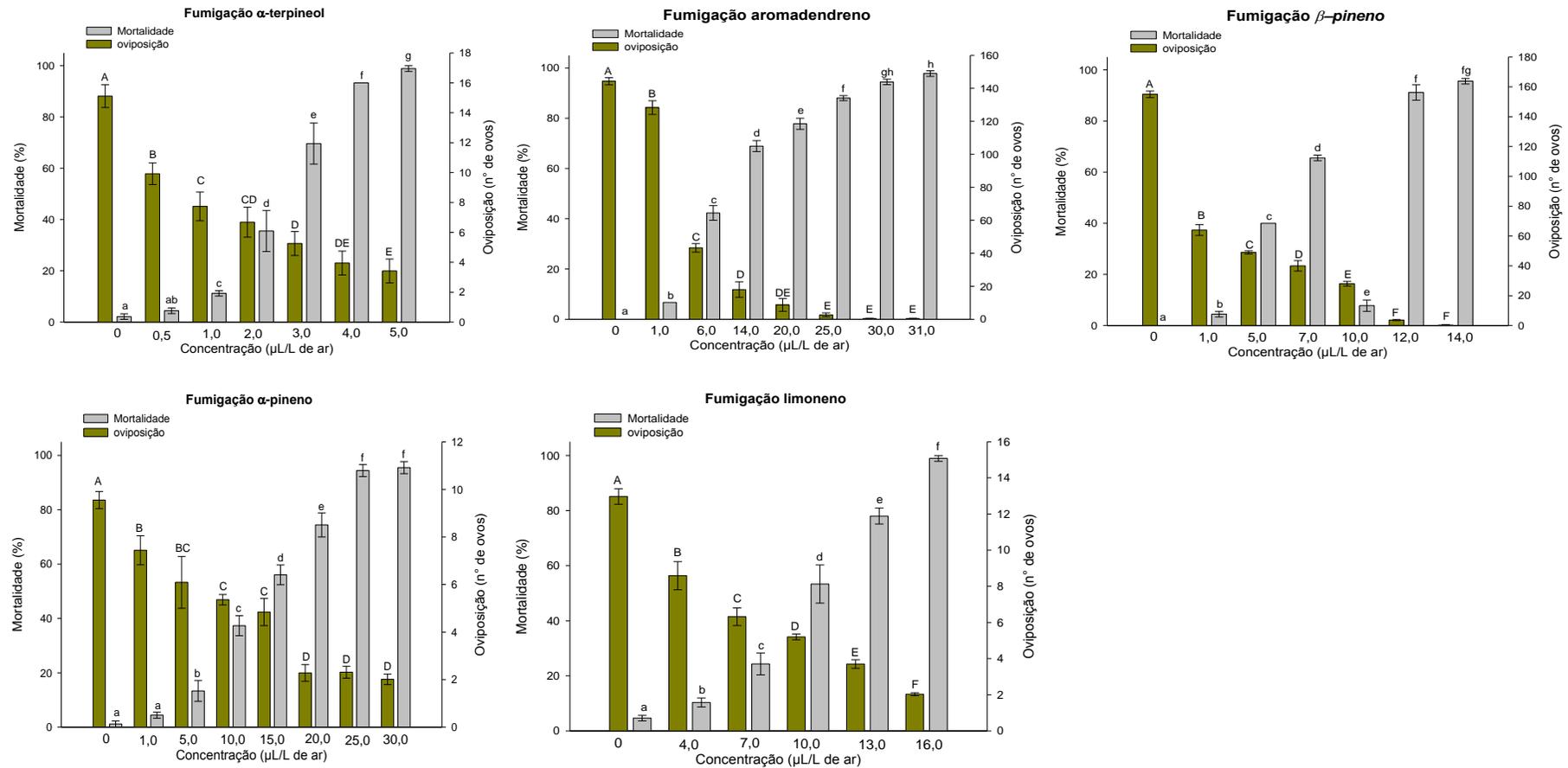


Figura 12. Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos das fêmeas de *T. urticae* em diferentes concentrações no experimento de fumigação dos compostos individuais selecionados a partir dos óleos de *Ocotea duckei* e *Ocotea glomerata*.

Figura 12. (continuação)



Barras seguidas de mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si (teste de Tukey a $p = 0,05$).

Os compostos que necessitaram das mais altas concentrações para promover redução no número de ovos foram o β -pineno, aromadendreno e o valenceno (1,0 μ L/L de ar, cada).

As concentrações letais médias (CL₅₀) dos compostos puros disponíveis para os experimentos de fumigação foram estimadas e são apresentadas na tabela 3.

Entre todos os compostos, o mais tóxico ao *T. urticae* foi β -cariofileno (CL₅₀ = 0,04 μ L/L de ar) seguido pelo terpinen-4-ol (CL₅₀ = 0,42 μ L/L de ar). Os monoterpenos α -pineno (CL₅₀ = 12,46 μ L/L de ar) e (R)-limoneno (CL₅₀ = 9,80 μ L/L de ar) foram os compostos que apresentaram a menor toxicidade.

Comparando a toxicidade dos compostos puros com o controle positivo, verifica-se que o composto que apresentou a menor CL₅₀ entre todos os compostos, o β -cariofileno, foi cerca de 10 vezes menos tóxico ao *T. urticae* do que o eugenol (CL₅₀ = 0,004 μ L/L de ar) no teste de fumigação.

Entre os compostos puros testados por fumigação, que foram identificados no óleo da espécie *O. duckei*, apenas o β -cariofileno, que foi identificado como majoritário no óleo, apresentou uma CL₅₀ menor do que o óleo, sugerindo que o mesmo pode ser o responsável pela atividade observada pelo óleo.

Tabela 3. Toxicidade por fumigação (CL₅₀ em µL/L de ar) dos compostos individuais sobre *T. urticae*.

Composto	n	df	slope	Fumigação CL ₅₀ (IC 95%)	χ ²	RT ₅₀ (IC 95%)
α-pineno	722	5	3,91 (3,53-4,29)	12,46 (9,56-14,77)	11,04	276,25 (103,07 - 440,01)
β-pineno	540	4	2,95 (2,69-3,20)	4,25 (3,49-6,16)	9,16	109,12 (43,72 - 272,33)
p-cimeno	630	5	2,11 (1,97-2,25)	3,69 (2,76-4,71)	9,83	95,77 (30,36 - 220,27)
(R)-limoneno	444	3	7,35 (6,46-8,23)	9,80 (7,05-11,39)	7,60	270,15 (96,06 - 490,91)
terpinoleno	445	3	2,17 (1,99-2,35)	1,08 (0,62-1,62)	6,92	29,87 (8,80 - 64,71)
Terpinen-4-ol	450	3	5,64 (5,12-6,16)	0,42 (0,35-0,49)	5,86	11,45 (6,54 - 15,27)
α-terpineol	633	4	6,08 (5,20-6,96)	2,39 (1,64-2,76)	7,81	52,98 (19,77 – 111,12)
β-cariofileno	720	6	0,80 (0,33-1,27)	0,04 (0,025-0,077)	9,12	-
Aromadendreno	540	4	2,14 (1,98-2,30)	6,59 (5,21-7,11)	9,28	170,11 (94,00 - 395,29)
α-humuleno	629	5	1,85 (1,74-1,96)	1,80 (1,30-2,30)	8,41	55,03 (24,74 - 98,71)
Valenceno	540	4	2,84 (2,64-3,04)	4,45 (3,97-5,06)	4,08	123,76 (86,75 - 165,40)

n = Número de ácaros/dose; GL= Grau de liberdade. IC = Intervalo de confiança; χ²= chi-quadrado; RT = Razão de toxicidade.

Os resultados das CL_{50} obtidos dos compostos puros identificados no óleo essencial da *O. glomerata*, revelaram que dois compostos (β -cariofileno e terpinen-4-ol CL_{50} = 0,04 e 0,42 μ L/L de ar, respectivamente) apresentaram uma toxicidade mais alta do que o próprio óleo, enquanto que a toxicidade apresentada para terpinoleno e o α -humuleno não diferem estatisticamente da toxicidade apresentada para o óleo de *O. glomerata*.

No experimento de contato residual com os compostos puros (Figura 13), o β -cariofileno a uma concentração de apenas 6,0 μ L/mL promoveu uma mortalidade acima de 95% dos ácaros. Por outro lado, para os demais compostos foram necessárias concentrações bem mais altas para promover a mesma mortalidade. Como por exemplo, para o terpinoleno promover uma mortalidade acima de 95%, foi necessário uma concentração de 800,0 μ L/mL.

Em relação ao número de ovos ovipositados no experimento de contato residual com os compostos puros, o terpinoleno (250 μ L/mL) e o terpinen-4-ol (200 μ L/mL) foram os compostos que apresentaram as maiores concentrações para promover uma redução no número de ovos, quando comparado com o controle. Os demais compostos não necessitaram de concentrações acima de 20 μ L/mL para promover uma redução no número de ovos, entre esses, destaque, mais uma vez, para o β -cariofileno, que a uma concentração de apenas 0,1 μ L/mL foi capaz de reduzir cerca de 20% no número de ovos.

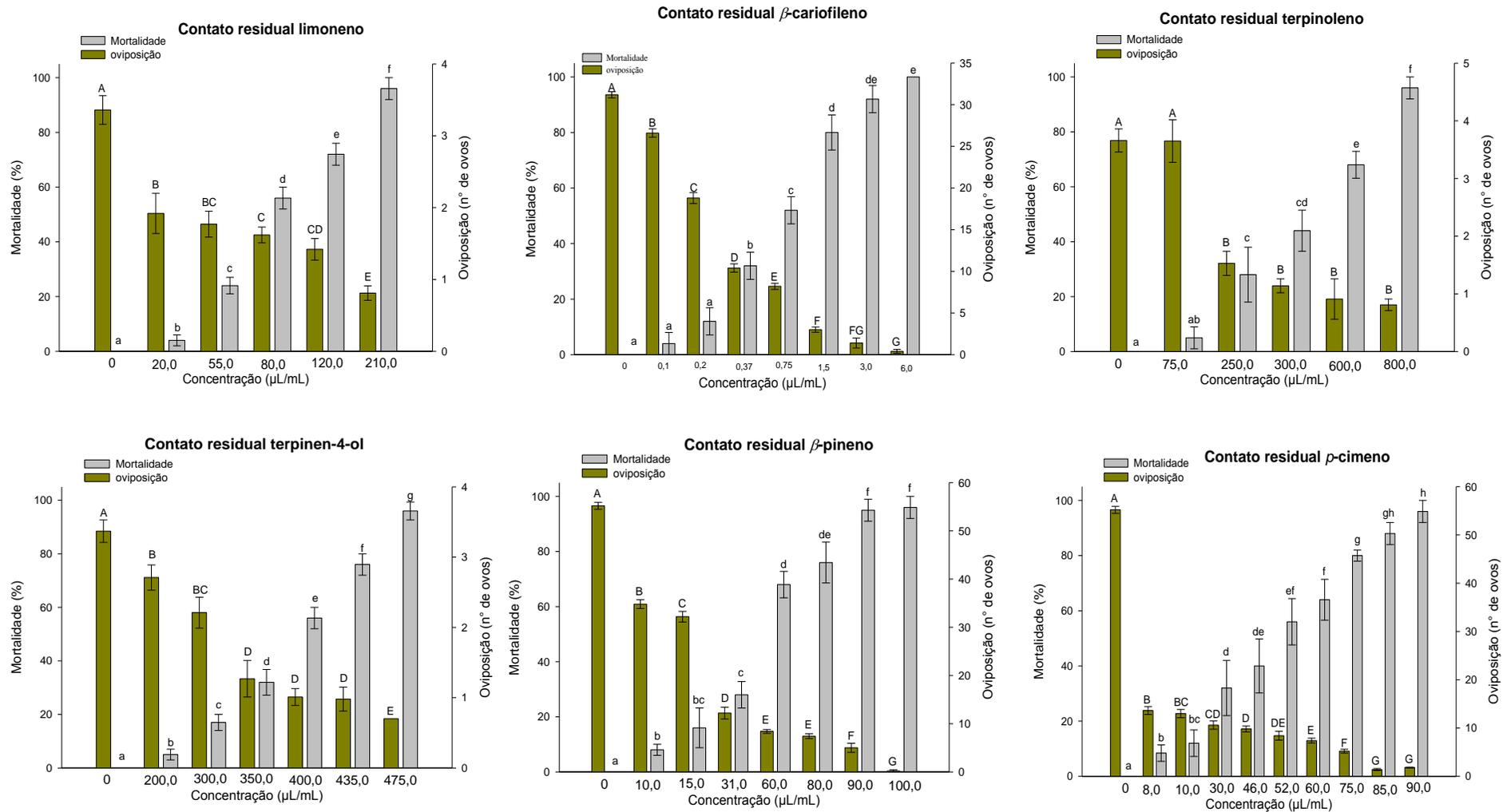
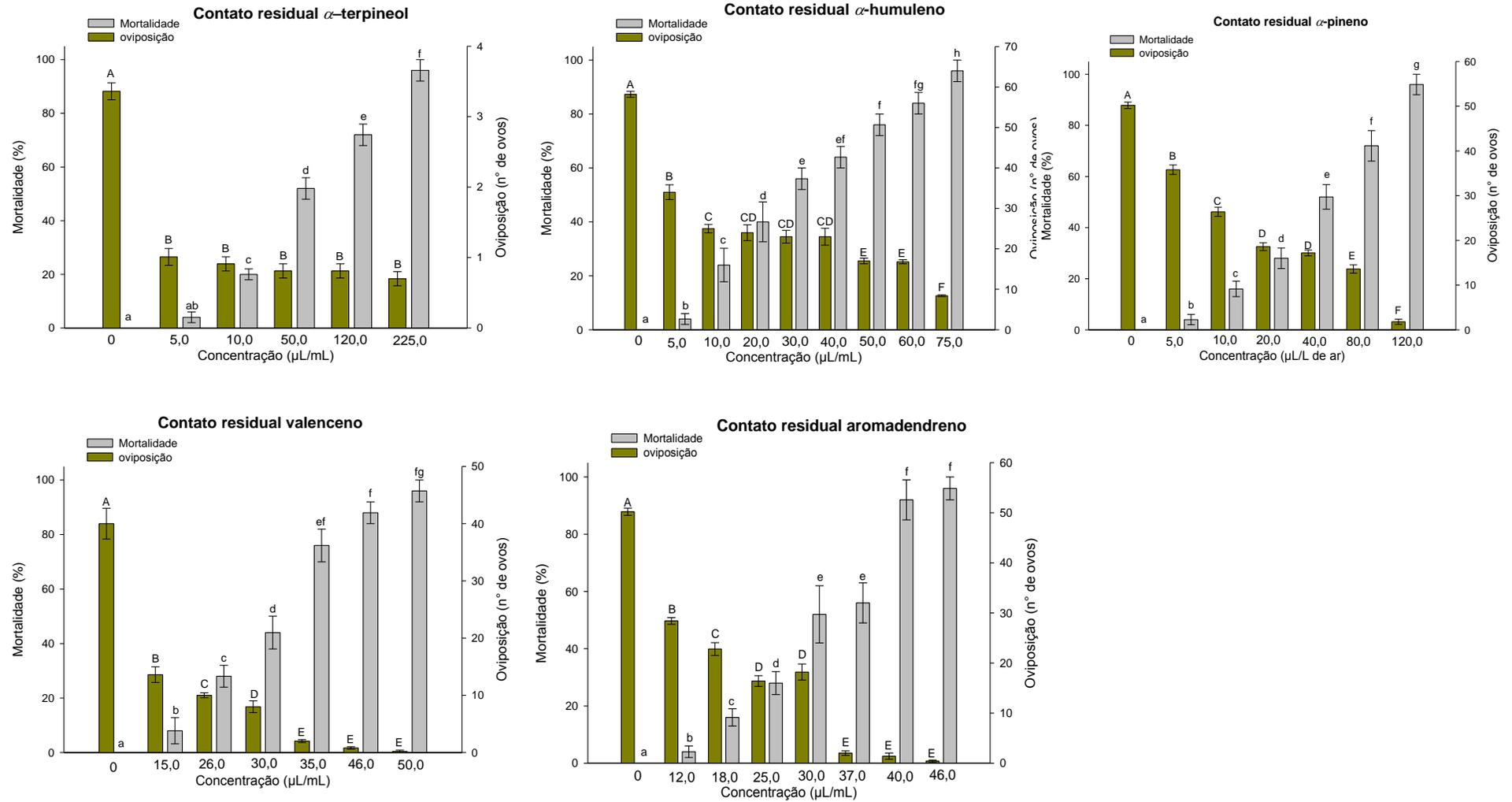


Figura 13. Mortalidade (%) e redução na quantidade de ovos das fêmeas de *T. urticae* em diferentes concentrações no experimento de contato residual dos mono e sesquiterpenos selecionados a partir do óleo de *O. duckei* e *O. glomerata*.

Figura 13. (continuação)



Barras seguidas de mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula não diferem entre si. (teste de Tukey a p = 0,05).

As concentrações letais médias (CL_{50}) dos experimentos de contato residual com os compostos puros disponíveis foram estimadas e são apresentadas na tabela 4. β -Cariofileno ($CL_{50} = 0,64 \mu\text{L/mL}$) foi o composto mais tóxico. O segundo composto mais tóxico foi o α -humuleno ($CL_{50} = 23,97 \mu\text{L/mL}$). Comparando a CL_{50} dos dois compostos acima, verifica-se que o β -cariofileno foi cerca de 37 vezes mais tóxico ao *T. urticae* do que o α -humuleno.

Por outro lado, os compostos terpinen-4-ol ($CL_{50} = 366,56 \mu\text{L/mL}$) e terpinoleno ($CL_{50} = 341,90 \mu\text{L/mL}$) foram os que apresentaram a menor toxicidade ao *T. urticae*. Os demais compostos testados apresentaram toxicidades, no mínimo, 50 vezes menores do que a toxicidade observada para o β -cariofileno.

Comparando a toxicidade dos compostos puros com o controle positivo, eugenol, verifica-se que β -cariofileno, no experimento de contato foi cerca de 3 vezes mais tóxico ao *T. urticae* do que o eugenol.

Entre os constituintes testados no experimento de contato residual, apenas o β -cariofileno, que foi identificado nos dois óleos, apresentou uma maior toxicidade ao *T. urticae* do que os óleos essenciais da *O. duckei* e *O. glomerata*. Por outro lado, o composto α -humuleno, identificado no óleo da *O. duckei*, foi o segundo composto mais tóxico no experimento de contato residual, mesmo assim este foi 5 vezes menos tóxico do que o óleo essencial da *O. duckei*. Entre os compostos identificados no óleo essencial da *O. glomerata* o composto que apresentou a segunda maior toxicidade ao *T. urticae* no experimento de contato residual foi o aromadendreno, mesmo assim a toxicidade apresentada por este composto foi cerca de 4 vezes menos tóxico ao *T. urticae* do que o óleo essencial da *O. glomerata*.

Tabela 4. Toxicidade por contato residual (CL₅₀ em µL/mL) dos compostos individuais sobre *T. urticae*.

Composto	N	df	slope	Contato residual CL ₅₀ (IC 95%)	χ ²	RT ₅₀ (IC 95%)
α-pineno	150	4	2,16 (1,86-2,45)	34,13 (26,38-44,81)	2,73	56,95 (36,81-76,17)
β-pineno	150	4	2,73 (2,39-3,07)	38,93 (31,72-46,91)	8,10	69,40 (43,96-82,98)
p-cimeno	200	6	2,69 (2,36-3,02)	36,95 (28,03-46,49)	6,48	63,32 (41,85-78,49)
(R)-limoneno	124	3	3,48 (2,91-4,04)	76,94 (63,19-92,20)	1,52	129,36 (87,43-162,94)
Terpinoleno	121	3	3,05 (2,53-3,57)	341,90 (206,90-520,83)	3,78	543,40 (393,56-633,45)
Terpinen-4-ol	149	4	9,47 (7,96-10,98)	366,56 (306,47-421,30)	8,43	593,28 (501,21-690,76)
α-terpineol	123	3	1,70 (1,46-1,94)	40,43 (27,48-58,72)	2,94	68,72 (40,04-98,23)
β-cariofileno	175	5	2,25 (1,97-2,52)	0,64 (0,49-0,83)	0,72	-
Aromadendreno	175	5	8,00 (6,17-9,83)	29,61 (26,94-32,38)	3,43	49,94 (34,85-60,57)
α-humuleno	200	6	2,45 (2,12-2,77)	23,97 (19,32-28,94)	2,85	37,19 (26,98-51,26)
Valenceno	150	4	8,01 (6,47-9,55)	31,21 (27,68-33,93)	1,78	53,43 (36,99-58,39)

n = Número de ácaros/dose; GL= Grau de liberdade. IC = Intervalo de confiança; χ²= chi-quadrado; RT = Razão de toxicidade.

Com base nos resultados das CL₅₀ dos compostos puros, observou-se que, assim como nos óleos essenciais, os compostos puros foram mais eficientes por fumigação do que por contato residual.

Resultados obtidos para os testes de fumigação e contato residual desses mono e sesquiterpenos que constituem os óleos de *O. duckei* e *O. glomerata* sugerem que as toxicidades obtidas para estes óleos sejam atribuídas basicamente às atividades observadas para o composto β -cariofileno. No entanto, não necessariamente, a atividade de um óleo é atribuída às toxicidade relativa apresentada para um constituinte testado individualmente. É preciso levar em consideração as possíveis interações entre este constituinte com os demais, bem como suas proporções na composição do óleo essencial. (MIRESMAILLI *et al.*, 2006).

3.1.4. Toxicidade das blendas preparadas com os constituintes químicos selecionados a partir do óleo de *O. dukcei* e *O. glomerata*.

Com o intuito de investigar o papel exercido pelos mono e sesquiterpenos na toxicidade apresentada para o óleo de *O. duckei* e *O. glomerata*, os bioensaios de fumigação e contato residual foram repetidos com as blendas dos constituintes selecionados para estudo, levando em consideração a mesma proporção relativa em que foram identificado GC/EM nos respectivos óleos analisados.

As misturas dos constituintes selecionados a partir do óleo essencial de *O. duckei* (α -pineno 2,5 \pm 0,1%; β -pineno 5,2 \pm 0,0%; (R)-limoneno 1,1 \pm 0,0%; α -terpineol 0,3 \pm 0,0%; β -cariofileno 18,1 \pm 0,1%; aromadendreno 0,5 \pm 0,0%; α -humuleno 2,2 \pm 0,0% e valenceno 17,6 \pm 0,0%, representando um total de 47,5% do óleo) e da *O. glomerata* (α -pineno 6,9 \pm 0,1%; *p*-cimeno 4,9 \pm 0,0%; (R)-limoneno 1,0 \pm 0,0%;

terpinoleno $2,1\pm 0,1\%$; terpinen-4-ol $0,4\pm 0,0\%$; β -cariofileno $14,6\pm 0,3\%$ e aromadendreno $17,3\pm 0,6\%$, representando um total de 47,2% do óleo), denominadas, respectivamente, de mistura artificial dos óleos de *O. duckei* e *O. glomerata* foram preparadas e submetidas aos testes de fumigação e contato residual. Os resultados destas misturas artificiais dos óleos foram comparados com a toxicidade obtida para os respectivos óleos essenciais.

De acordo com a tabela 5, pode-se concluir que independentemente da procedência da mistura artificial, a toxicidade por fumigação foi mais eficiente do que por contato.

A toxicidade de contato residual da mistura completa de *O. duckei* ($CL_{50} = 20,79 \mu\text{L/mL}$) não diferiu estatisticamente da obtida para a mistura completa de *O. glomerata* ($CL_{50} = 23,99 \mu\text{L/mL}$). Entretanto, a ação fumigante observada para a mistura artificial de *O. duckei* ($CL_{50} = 0,78 \mu\text{L/L}$ de ar) foi 3,16 vezes maior do que a mistura artificial de *O. glomerata*.

Comparando as toxicidades relativas entre as misturas artificiais e os respectivos óleos naturais, constatou-se que a atividade por fumigação e contato residual obtida para mistura artificial de *O. glomerata* foi inferior a observada para o óleo natural. Esse resultado sugere uma provável interação antagonística entre os constituintes selecionados que compõem a mistura artificial.

Tabela 5. Toxicidade por fumigação (CL₅₀ em µL/L de ar) e contato residual (CL₅₀ em µL/mL) das blendas dos óleos essenciais da *O. duckei* e *O. glomerata* sobre *T. urticae*.

FM	n	df	slope	Fumigação		
				CL ₅₀ (IC 95%)	χ ²	RT ₅₀ (IC 95%)
<i>O. duckei</i>	630	5	3,28 (3,06-3,50)	0,78 (0,66-0,86)	1,81	-
<i>O. glomerata</i>	540	4	4,98 (4,58-5,37)	2,47 (2,11-2,69)	8,89	3,31 (2,30-4,12)
FM	n	df	slope	Contato residual		
				CL ₅₀ (IC 95%)	χ ²	RT ₅₀ (IC 95%)
<i>O. duckei</i>	150	4	3,06 (2,66-3,46)	20,79 (16,86-25,12)	3,55	-
<i>O. glomerata</i>	150	4	6,21(5,40-7,01)	23,99 (21,76-26,34)	1,81	1,30 (0,95-1,93)

FM= mistura completa dos compostos disponíveis n = Número de ácaros/dose; GL= Grau de liberdade. IC = Intervalo de confiança; χ²= chi-quadrado; RT = Razão de toxicidade.

Por outro lado, enquanto que a toxicidade por contato da mistura artificial de *O. duckei* ($CL_{50} = 20,79 \mu\text{L/mL}$) foi cerca de 5 vezes menor, comparada com a do óleo natural, no teste de fumigação constatou-se que os intervalos de confiança para os valores estimados das CL_{50} obtidos da mistura artificial de *O. duckei* ($CL_{50} = 0,78 \mu\text{L/L}$ de ar) e do óleo natural ($CL_{50} = 0,52 \mu\text{L/L}$ de ar) se sobrepõem entre si, sugerindo que a mistura artificial alcançou o mesmo nível de toxicidade observada para o óleo essencial.

Este resultado corrobora a hipótese que a atividade acaricida de um óleo essencial é decorrente de suas interações e proporção em que são encontrados no óleo essencial. De fato, no experimento de contato residual a toxicidade da blenda formulada a partir do óleo da *O. duckei* ($CL_{50} = 20,79 \mu\text{L/ml}$) foi cerca de 4 vezes menos tóxico ao *T. urticae* do que o óleo essencial da *O. duckei*. Resultado semelhante foi obtido pela blenda formulada a partir do óleo da *O. glomerata* teste de contato residual, onde blenda do óleo da *O. glomerata* ($CL_{50} = 23,99 \mu\text{L/ml}$) apresentou uma toxicidade cerca de 3 vezes menor do que a obtida para o óleo da mesma. Estes resultados sugerem que nos dois casos, outros componentes dos óleos (cerca de 50,0% do óleo, representados por 29 compostos no óleo da *O. duckei* e 32 para o óleo da *O. glomerata*) exercem uma significativa contribuição à toxicidade observada para os óleos através das interações sinérgicas entre eles e os constituintes aqui investigados.

Com objetivo de determinar o nível de contribuição dos compostos na toxicidade por fumigação e contato residual destas misturas artificiais, novas blends foram preparadas a partir destas misturas removendo um dos constituintes por vez.

A toxicidade das novas blends obtidas com a remoção de um dos constituintes a partir da mistura artificial do óleo de *O. duckei* foi avaliada na mesma

concentração em que o respectivo óleo promoveu mortalidade $\geq 96.0\%$. A figura 14 apresenta as médias de mortalidades de ácaros por fumigação e contato residual das blendas incompletas preparadas a partir da mistura artificial do óleo de *O. duckei*. Para o bioensaio de fumigação constatou-se que a remoção de alguns constituintes da mistura completa como, por exemplo, α -pineno, e α -terpinenol pouco interferiu na toxicidade da blenda testada, enquanto que a média de mortalidade foi reduzida moderadamente pela remoção do β -pineno, aromadendreno, α -humuleno, D-limoneno e drasticamente pela remoção do β -cariofileno e valenceno. Estes resultados sugerem que na mistura artificial preparada com os compostos selecionados do óleo de *O. duckei* na mesma proporção relativa em que foram identificados por CG/EM, os sesquiterpenos valenceno, seguido do β -cariofileno, em maiores proporções são os que mais contribuem à toxicidade por fumigação observada para a mistura artificial do óleo testado.

Seguindo a mesma linha de raciocínio utilizada para os dados de fumigação, análise das toxicidades apresentadas pelas blendas nos testes de contato residual, pode-se inferir que o β -cariofileno, seguido por valenceno e α -humuleno são os que mais contribuem à toxicidade da mistura artificial do óleo de *O. duckei* (Figura 14).

Por outro lado, a remoção de α -pineno, D-limoneno e aromadendreno aumentou consideravelmente a mortalidade comparada com a mistura completa, enquanto que a toxicidade alcançou o mesmo nível obtido para o óleo de *O. dukei* pela remoção de β -pineno ou α -terpinenol, indicando que a ausência de um dos compostos na mistura completa promove uma interação sinérgica entre os constituintes remanescentes.

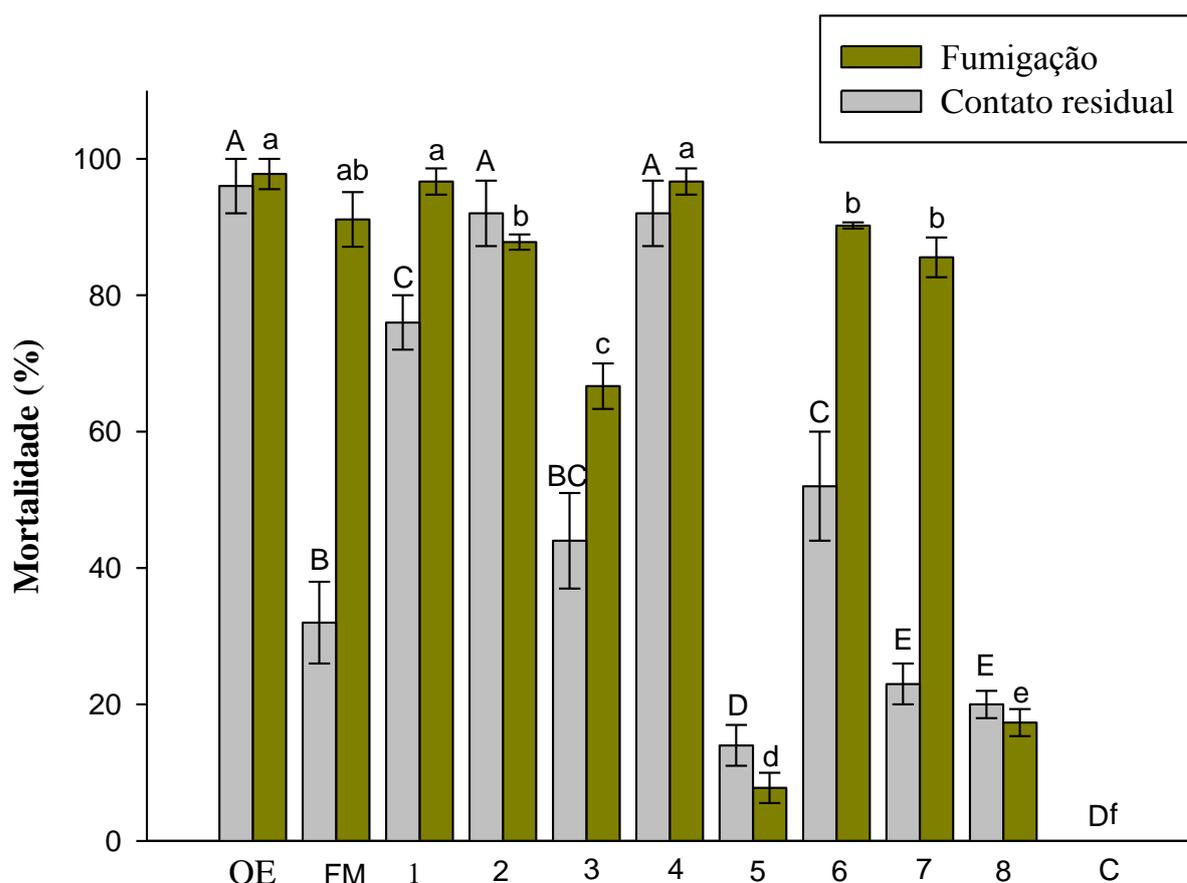


Figura 14. Mortalidade média causada pelas blendas incompletas preparadas com a remoção de um dos constituintes da mistura artificial de *O. duckei* sobre *T. urticae* na concentração equivalente a do experimento com o óleo das folhas que promoveu mortalidade de $\geq 96.0\%$ ($3,2 \mu\text{L/L}$ de ar para fumigação e $20 \mu\text{L/mL}$ para contato residual). Barras representam a média do desvio padrão de 90 ácaros. Barras com mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). OE = óleo essencial puro de *O. duckei*, FM = mistura completa dos 8 compostos selecionados a partir do OE. Os números indicam as blendas com a ausência do composto marcado. 1 = α -pineno; 2 = β -pineno; 3 = (R)-limoneno; 4 = α -terpineol; 5 = β -cariofileno; 6 = Aromadendreno; 7 = α -humuleno; 8 = valenceno; C = controle.

As médias de mortalidades apresentadas pelas blendas incompletas preparadas com os constituintes selecionados a partir do óleo essencial de *O. glomerata* são apresentadas na figura 15. A média de mortalidade cai drasticamente tanto por fumigação quanto por contato residual pela remoção do aromadendreno e β -cariofileno. No contato residual, a média de mortalidade promovida pela remoção do *p*-cimeno não difere significativamente da blenda sem o β -cariofileno, sugerindo a esse monoterpene sua importância na mistura artificial do óleo. Por outro lado, a remoção dos monoterpenos, α -pineno e terpinoleno pouco interferem na média de mortalidade nos bioensaios de fumigação. Resultado similar foi observado para o bioensaio de contato residual com a remoção de D-limoneno e terpinen-4-ol. Como observado para a mistura artificial do óleo de *O. duckei*, os componentes em maiores proporções utilizados na mistura artificial dos óleos de *O. glomerata* são os que mais contribuem à toxicidade dessa blenda.

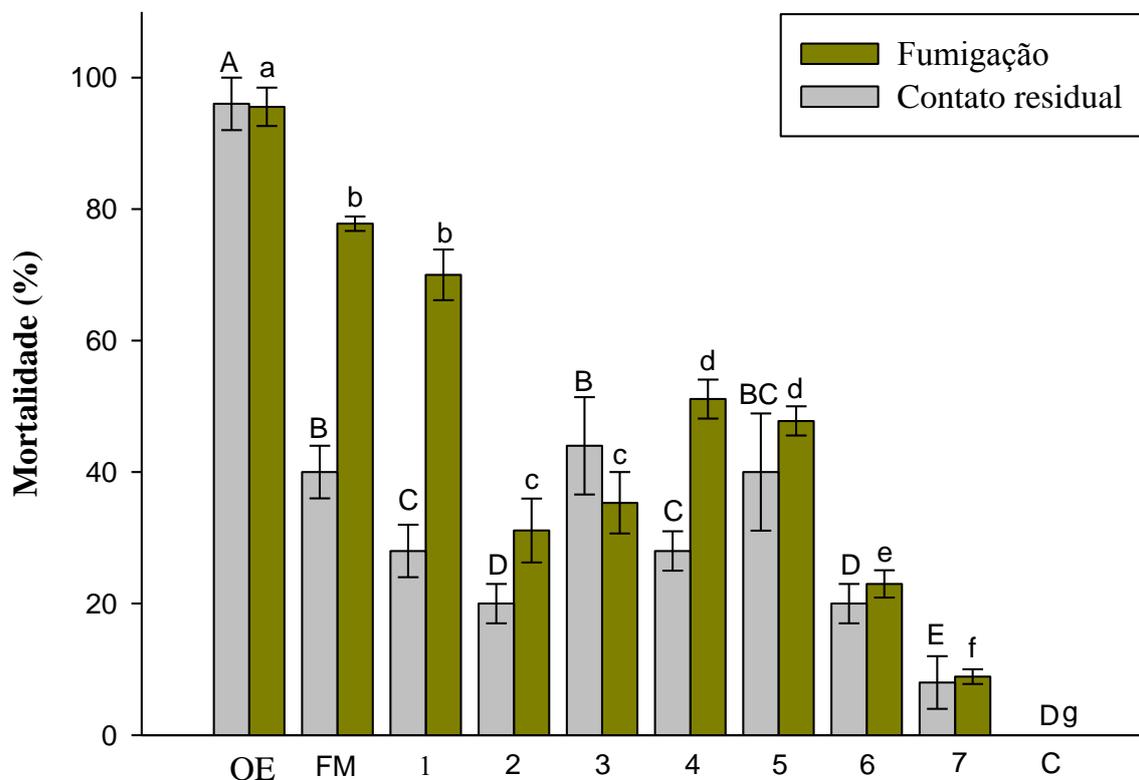


Figura 15. Mortalidade média causada pelas blendas incompletas preparadas com a remoção de um dos constituintes da mistura artificial de *O. glomerata* sobre *T. urticae* na concentração equivalente a do experimento com o óleo essencial que promoveu mortalidade $\geq 96.0\%$ ($3,6 \mu\text{L/L}$ de ar para fumigação e $22 \mu\text{L/mL}$ para contato residual). Barras representam a média do desvio padrão de 90 ácaros. Barras com mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). OE = óleo essencial; FM = blenda dos 6 compostos, enquanto os números indicam a mistura quase completa, isto é, com a ausência do composto marcado. 1 = α -pineno; 2 = p -cimeno; 3 = (R)-limoneno; 4 = terpinoleno; 5 = terpinen-4-ol; 6 = β -cariofileno; 7 = Aromadendreno; C = controle.

Nenhuma das blendas incompletas, inclusive a mistura artificial de *O. glomerata* apresentou toxicidade por fumigação ou contato residual equivalente a obtida para óleo essencial, sugerindo que outros componentes do óleo, não avaliados nesse estudo, são necessários para alcançar o nível de mortalidade observado para o óleo essencial de *O. glomerata*.

Este estudo corrobora o potencial biológico de espécies da família Lauracea para o controle de artrópodes e que o óleo essencial de *O. dukei* é um excelente candidato na preparação de um produto formulado tendo como princípio ativo o óleo essencial das folhas dessa espécie para o manejo integrado do *T. urticae*. No entanto, novos estudos são necessários para avaliar os efeitos desse óleo sobre seu inimigo natural e plantas hospedeira praga alvo. A investigação realizada sobre a toxicidade dos constituintes químicos individuais do óleo e suas blendas, indica que é possível selecionar uma mistura artificial entre os compostos de um óleo essencial que seja eficiente para o controle de uma praga alvo. Os dados revelam ainda que o papel exercido por esses constituintes dependa não só das interações entre os compostos e suas proporções relativas na mistura, mas também do tipo de bioensaio utilizado.

3.2. Composição química e atividade acaricida dos óleos essenciais das folhas e frutos da *Eugenia langsdorffii*¹

Os rendimentos dos óleos obtidos pela técnica de hidrodestilação das folhas ($0,05 \pm 0,1\%$) e frutos ($0,06 \pm 0,1\%$) da *E. langsdorffii* não diferiram estatisticamente entre si. A rotação óptica dos óleos indicou que ambos são levogeros, tendo o óleo da folha um maior ângulo de desvio da luz polarizada do que o óleo dos frutos. As

¹ Manuscrito submetido à Journal of Brazilian Chemical Society no dia 05 de dezembro de 2011.

análises CG e CG/EM dos óleos essenciais das diferentes partes da planta permitiu identificação de 56 compostos diferentes divididos entre mono e sesquiterpenos (Tabela 6).

Trinta e sete compostos diferentes foram identificados no óleo das folhas, que representam $93,4 \pm 0,8\%$ da composição total do óleo. *Epi*-longipinanol ($13,6 \pm 0,1\%$), seguido pelo γ -eudesmol ($12,3 \pm 0,2\%$), (R)-limoneno ($11,8 \pm 0,1\%$) e 10-*epi*- γ -eudesmol ($10,6 \pm 0,2\%$) foram os principais constituintes do óleo das folhas de *E. langsdorffii*. O sesquiterpeno tricíclico maliol ($6,2 \pm 0,2\%$) também foi encontrado em quantidades apreciáveis no óleo das folhas (Figura 16).

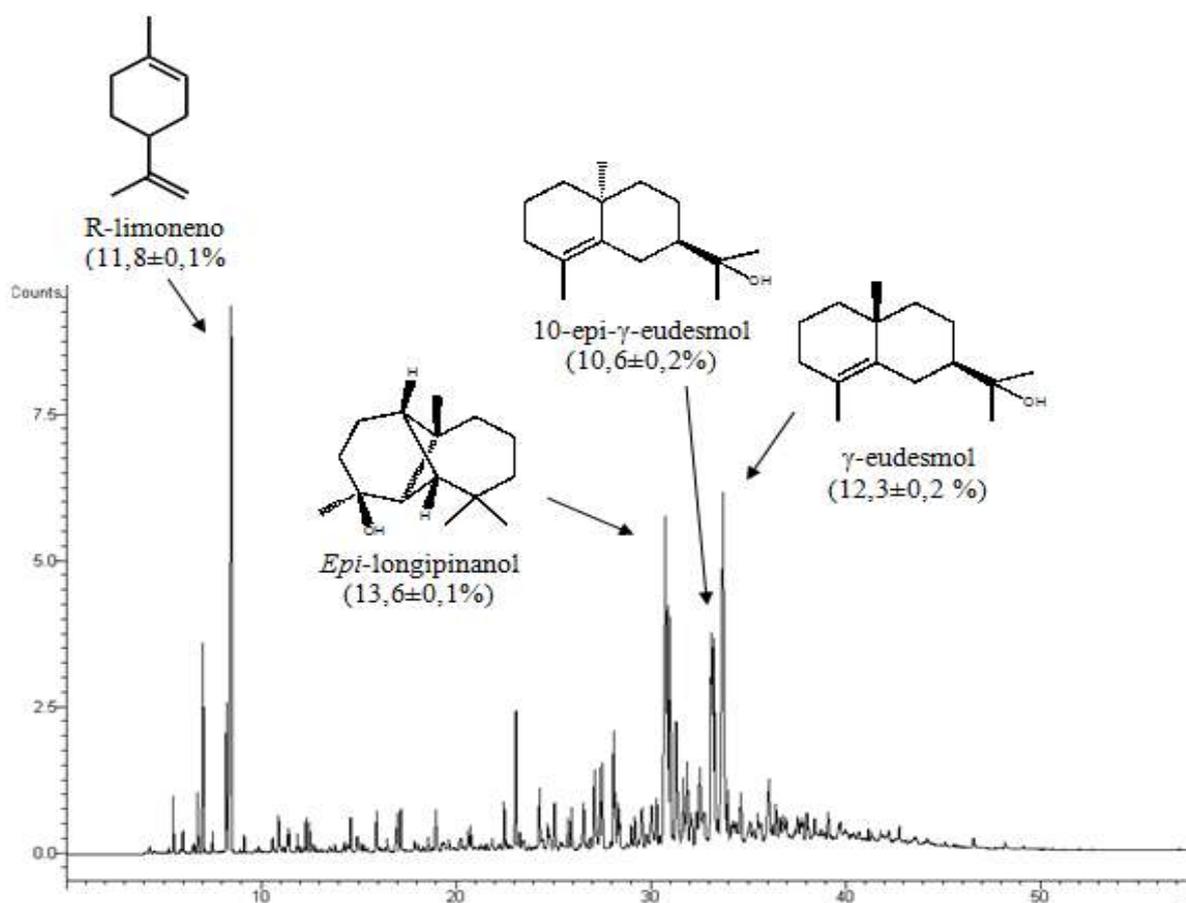


Figura 16. Cromatograma do óleo essencial das folhas da espécie *Eugenia langsdorffii*, com as estruturas dos constituintes majoritários.

Dezenove constituintes representando $95,1 \pm 1,5\%$ foram identificados no óleo essencial dos frutos, entre os quais 10-epi- γ -eudesmol ($35,7 \pm 0,3\%$), 1,10-di-epi-cubenol ($15,6 \pm 0,3\%$), epi-longipinanol ($7,3 \pm 0,2\%$), óxido de cariofileno ($7,5 \pm 0,1\%$), isolongifolan-7- α -ol ($7,1 \pm 0,1\%$) e γ -eudesmol ($4,0 \pm 0,1\%$), foram os principais (Figura 17). De acordo com Stefanello e colaboradores (2011) os óleos essenciais das espécies de *Eugenia* são caracterizados pela predominância de sesquiterpenos cíclicos, juntamente com monoterpenos em um percentual menor. Os óleos da *E. langsdorffii* foram caracterizados por altos percentuais de sesquiterpenos ($72,2 \pm 0,9\%$ nas folhas e $92,2 \pm 0,2\%$ nos frutos), seguido de monoterpenos com $21,2 \pm 0,2\%$ para as folhas e $2,9 \pm 0,3\%$ para os frutos. Este é o primeiro relato da composição química do óleo essencial do *E. langsdorffii*.

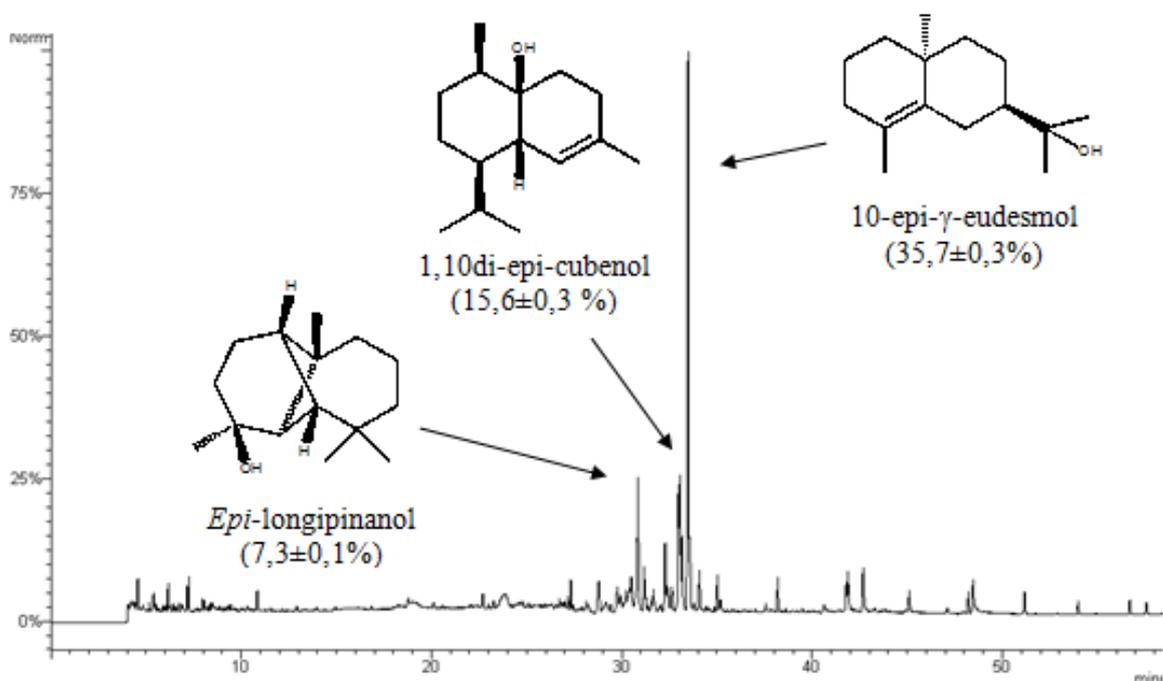


Figura 17. Cromatograma do óleo essencial das frutos da espécie *Eugenia langsdorffii*, com as estruturas dos constituintes majoritários.

Tabela 6. Rendimento, rotação específica e percentual relativo dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas e frutos de *Eugenia langsdorffii*

Composto	IR ^a	IR ^b	<i>Eugenia langsdorffii</i>		Método de identificação
			Folhas	Frutos	
Rendimento (%) ±SD			0,05±0,01	0,06±0,01	
[α] ^D ₂₂ (c.=1,CH ₂ Cl ₂)			- 9,0°	- 3,5°	
α -Tujeno	924	924	0,5±0,1	0,8±0,1	IR, EM
sabineno	969	969	0,5±0,1	0,9±0,0	IR, EM
β-Pineno	979	974	2,5±0,1	1,3±0,3	IR, EM, CI
p-Cimeno	1018	1020	2,4±0,1	-	IR, EM, CI
(R)-limoneno	1024	1024	11,8±0,1	-	IR, EM, CI
Dehidro-Linalol	1129	1131	0,4±0,0	-	IR, EM
2-Metil isoborneol	1178	1178	0,5±0,1	-	IR, EM
trans-Carveol	1210	1215	0,7±0,0	-	IR, EM
Carvono	1234	1239	0,4±0,1	-	IR, EM
Car-3-en-ono	1240	1244	0,7±0,1	-	IR, EM

α -Terpinen-7-al	1279	1283	0,8 \pm 0,1	-	IR, EM
α -Cubebeno	1350	1345	0,6 \pm 0,0	-	IR, EM
Silfiperfol-6-eno	1375	1377	2,1 \pm 0,1	-	IR, EM
β -Longipineno	1400	1400	1,1 \pm 0,2	-	IR, EM
Longifoleno	1410	1407	0,5 \pm 0,2	-	IR, EM
β -Duprezieno	1418	1421	0,8 \pm 0,1	-	IR, EM
Aromadendreno	1439	1439	0,6 \pm 0,1	-	IR, EM, CI
<i>Trans</i> -Muurolo-3,5-dieno	1454	1451	0,6 \pm 0,1	-	IR, EM
Ishwarano	1467	1465	1,0 \pm 0,2	-	IR, EM
γ -Gurjuneno	1474	1475	1,4 \pm 0,2	1,5 \pm 0,1	IR, EM
α -Amorpheno	1479	1483	1,4 \pm 0,2	-	IR, EM
<i>trans</i> -Muurolo-4(14),5-dieno	1490	1493	2,7 \pm 0,1	-	IR, EM
Valenceno	1496	1496	0,7 \pm 0,0	-	IR, EM, CI
γ -Cadineno	1512	1513	0,4 \pm 0,1	1,5 \pm 0,3	IR, EM

α -dehydro- ar- Himachaleno	1517	1516	0,6 \pm 0,1	-	IR, EM
Silphiperfol-5-em-3-ol B	1529	1534	1,1 \pm 0,1	-	IR, EM
Liguloxido	1538	1534	1,2 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	IR, EM
Selina-3,7(11)-dieno	1545	1545	-	0,5 \pm 0,0	IR, EM
Occidentalol	1552	1550	-	1,0 \pm 0,1	IR, EM
Epi-longipinanol	1559	1562	13,6 \pm 0,4	7,3 \pm 0,2	IR, EM
Maaliol	1562	1566	6,2 \pm 0,2	1,9 \pm 0,0	IR, EM
Zierono	1570	1574	3,1 \pm 0,2	-	IR, EM
Espatulenol	1578	1577	1,3 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	IR, EM
Oxide de Cariofileneo	1583	1582	1,8 \pm 0,1	7,5 \pm 0,1	IR, EM, CI
Guaiol	1596	1600	-	2,3 \pm 0,1	IR, EM
β -Atlantol	1603	1608	-	1,6 \pm 0,0	IR, EM
Isolongifolan-7- α -ol	1614	1618	-	7,1 \pm 0,1	IR, EM
1,10-di-epi-Cubenol	1614	1618	3,5 \pm 0,1	15,6 \pm 0,3	IR, EM

<i>10-epi-γ-Eudesmol</i>	1619	1622	10,6±0,2	35,7±0,3	IR, EM
<i>γ-Eudesmol</i>	1630	1630	12,3±0,2	4,0±0,1	IR, EM
<i>Pogostol</i>	1654	1651	1,1±0,1	-	IR, EM
<i>neo-Intermedeol</i>	1662	1658	-	2,3±0,2	IR, EM
<i>Aglomerono</i>	1694	1698	1,7±0,1	-	IR, EM
<i>Monoterpenos</i>			21,2±0,2	2,9±0,3	
<i>Sesquiterpenos</i>			72,2±0,9	92,2±0,2	
Total			93,4±0,8	95,1±1,5	

^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.

A tabela 7 mostra a toxicidade dos óleos essenciais da *E. langsdorffii* sobre o *T. urticae* em testes de fumigação e de contato residual. As toxicidades dos óleos variaram de acordo com a parte da planta estudada e do método aplicado. Em geral, os ácaros foram mais suscetíveis aos óleos por fumigação do que por contato residual. Análise de regressão linear para obter a concentração letal média (CL_{50}) dos óleos revelou que a fumigação do óleo das folhas ($CL_{50} = 1,8 \mu\text{L/L}$ de ar) foi 1,7 vezes mais tóxica do que o óleo de frutos ($CL_{50} = 3,0 \mu\text{L/L}$ de ar). Comportamento inverso foi observado no teste de contato residual, onde o óleo dos frutos com uma $CL_{50} = 12,2 \mu\text{L/mL}$ foi de 1,8 vezes mais tóxico do que o óleo das folhas ($CL_{50} = 21,9 \mu\text{L/mL}$). Comparando a toxicidade dos óleos com o controle positivo (eugenol), a ação fumigante deste último foi maior do que a por contato residual. O óleo das folhas, que apresentou melhor resultado no teste de fumigação foi de cerca de 450 vezes menos tóxico do que o eugenol ($CL_{50} = 0,004 \mu\text{L/L}$ de ar), enquanto que o óleo dos frutos ($CL_{50} = 12,25 \mu\text{L/mL}$) no teste de contato residual foi de apenas 6,7 vezes menos tóxicos (Tabela 7).

Estes resultados sugerem que os óleos essenciais da *E. langsdorffii* se mostraram ativos nos dois modos de ação acaricida, sendo mais eficiente através da penetração de vapores pelo sistema respiratório dos ácaros do que pela ingestão e/ou penetração através do contato direto dos ácaros. Para confirmar a forte ação fumigante observada para os óleos, experimentos foram repetidos com câmaras de fumigação aberta na mesma concentração que os que promoveram a mortalidade mais alta ($\geq 96,0\%$), ou seja, a uma concentração de $12 \mu\text{L/L}$ de ar para o óleo de folhas e $20 \mu\text{L/L}$ de ar para o óleo do fruto.

Tabela 7. Toxicidade por Fumigação (CL₅₀ em µL/L de ar) e contato residual (CL₅₀ em µL/mL) do óleo essencial da *E. langsdorffi* sobre o *T. urticae*.

Óleo ^a	n	GL	slope	Fumigação		χ ²	RT ₅₀ (IC 95%)
				CL ₅₀ (IC 95%)			
Folhas	720	6	1,86 (1,75-197)	1,79 (1,32 – 2,34)		12,07	510,0 (123,2-835,7)
Frutos	900	8	1,99 (1,88-2,09)	3,06 (2,47– 3,69)		13,12	870,1 (212,1-1175,4)
Eugenol ^b	580	5	0,84 (0,72-0,97)	0,004 (0,002-0,008)		2,50	-
^a Óleo	n	GL	Slope	Contato residual		χ ²	RT ₅₀ (IC 95%)
				CL ₅₀ (IC 95%)			
Folhas	174	5	3,50 (3,02-3,99)	21,90 (18,65 – 25,37)		4,62	12,40 (10,01-15,35)
Frutos	149	4	3,32 (2,83-3,81)	12,25 (10,02 – 14,43)		2,04	6,93 (5,49-8,75)
Eugenol ^b	199	5	2,15 (1,85-2,47)	1,80 (1,29-2,63)		5,68	-

^aÓleo essencial da *Eugenia langsdorffi*. ^bControle positivo. n = Número de ácaros/dose; GL= Grau de liberdade. IC = Intervalo de confiança; χ²= chi-quadrado; TR = Razão de toxicidade.

Nessas condições, ambos os óleos apresentaram uma drástica redução na mortalidade ($26,6\pm 1,1\%$ de mortalidade para o óleo das folhas e $30,8\pm 2,2\%$ para os frutos). Como esperado, nessas concentrações que foram testadas os óleos de *E. langsdorffii*, o eugenol promoveu 100% de mortalidade em experimento com câmaras fechadas. Entretanto, nos experimentos em câmaras abertas, a $12\mu\text{L/L}$ de ar, o eugenol não apresentou nenhuma toxicidade por fumigação e a média de mortalidade promovida a $20\mu\text{L/L}$ de ar não atingiu 10%. Esses resultados sugerem que a ação acaricida do eugenol nessas condições é basicamente por fumigação.

Os ácaros foram mais susceptíveis aos constituintes por fumigação do que por contato residual. A tabela 8 mostra os dados de toxicidade dos constituintes individuais por contato residual e fumigação. A toxicidade por fumigação com os constituintes disponíveis identificados no óleo dos frutos, β -pineno e óxido de cariofileno, apresentou alta toxicidade a $20\mu\text{L/L}$ de ar (Tabela 8). Comparando as toxicidades entre o controle positivo e as obtidas para os compostos individuais a $20\mu\text{L/L}$ de ar, apenas a toxicidade apresentada para o β -pineno ($100,0\pm 0,0\%$ de mortalidade) foi equivalente a do eugenol e maior do que a obtida para o óleo dos frutos ($97,7\pm 2,2\%$), sugerindo que o mesmo seja o responsável pela atividade observada pelo óleo. No entanto, a mistura entre esses constituintes preparada na mesma proporção identificado por GC/EM no óleo dos frutos ($1,3\pm 0,3$ para β -pineno e $7,5\pm 0,1$ para o óxido de cariofileno) (Tabela 6, Pág. 76), reduziu a mortalidade para 71,1%, indicando que, nessa proporção o óxido de cariofileno exerce efeito antagonista ao β -pineno, uma vez que o nível de toxicidades do β -pineno foi significativamente maior quando testado individualmente (Tabela 8).

Tabela 8. Mortalidade (% \pm SD) causada pelos constituintes individuais encontrados nos óleos essenciais da *E. langsdorffii* sobre o *T. urticae*, aplicado na mesma concentração do óleo das folhas e frutos que apresentaram mortalidade \geq 96,0%.

Compostos/Óleo	Fumigação		Contato residual	
	Óleo das folhas (12 μ L/L de ar)	Óleo dos frutos (20 μ L/L de ar)	Óleo das folhas (46 μ L/mL)	Óleo dos frutos (31 μ L/m)
Óxido de cariofileno	61,3 \pm 2,9b	77,7 \pm 2,9c	80,0 \pm 1,7c	72,1 \pm 4,8b
β -pineno	91,1 \pm 1,1c	100,0 \pm 0,0d	38,4 \pm 3,0d	24,0 \pm 4,8c
Valenceno	86,6 \pm 1,9d		88,0 \pm 2,2c	
<i>p</i> -cimeno	84,4 \pm 2,9e		40,7 \pm 2,9d	
(R)-limoneno	71,1 \pm 2,9f		64,0 \pm 2,9e	
Aromadendreno	61,3 \pm 2,2b		96,0 \pm 2,8ab	
FM ^a	98,8 \pm 1,6a	71,1 \pm 1,1b	92,0 \pm 1,8b	71,1 \pm 4,8b
Óleo	CFF	96,6 \pm 1,9a	97,7 \pm 2,2a	
	CFA	26,6 \pm 1,1	38,8 \pm 2,2	
Eugenol ^b	CFF	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	

CFA	0,0±0,0	10,0±0,0
------------	---------	----------

^aMistura completa dos compostos preparado no mesmo percentual identificado na análise por CG e CG/EM do óleo das folhas e frutos. ^bControle positivo. CFF e CFA experimento de fumigação realizado com a câmara fechada e aberta, respectivamente. Mortalidade media (\pm SD) com a mesma letra na mesma coluna não se diferencia significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0.05$).

Ao contrário do observado para fumigação, na toxicidade por contato residual, nenhum dos constituintes apresentou toxicidade ao nível do observado para o óleo dos frutos (96,0% de mortalidade). A toxicidade observada para o β -pineno ($24,02 \pm 2,9\%$) foi muito menor do que a do óxido de cariofileno ($72,1 \pm 1,8\%$). Comparando os dois métodos utilizados para avaliar a toxicidade contra *T. urticae*, observou-se que o β -pineno foi mais tóxico do que o óxido de cariofileno no teste de fumigação. Esses dados podem ser justificados devido à maior volatilidade do β -pineno devido à sua menor massa molecular e interações químicas mais fracas do que o óxido de cariofileno em solução metanólica.

O resultado do teste por contato residual da blenda desses dois constituintes sugere, nesse caso, que o β -pineno interage antagonisticamente com o óxido de cariofileno. Esses resultados indicam que o β -pineno e óxido de cariofileno, representando apenas 8,8% dos constituintes identificados no óleo dos frutos não são os únicos responsáveis pela ação fumigante e de contato residual observada para o óleo. Os resultados obtidos para a fumigação e contato residual desses constituintes, não devem ser estendidas para o óleo, mesmo o β -pineno tendo apresentado alta toxicidade isoladamente. Nesse caso, outros componentes do óleo (86,3% do óleo) exercem uma significativa contribuição à toxicidade observada para os óleos dos frutos através das interações sinérgicas entre eles e os dois constituintes aqui investigados.

Para o óleo das folhas, os testes de fumigação com os compostos individuais a 12 $\mu\text{L/L}$ de ar, revelaram três compostos com alta toxicidade (β -pineno, *p*-cimeno e valenceno, supostamente os mais ativos), enquanto que aromadendreno, (R)-limoneno e óxido de cariofileno apresentaram toxicidade variando entre fraca e moderada (supostamente menos ativos). Nenhum constituinte testado apresentou

mortalidade igual ou superior ao do óleo das folhas. Por outro lado, o percentual de mortalidade de ácaros da mistura completa dos seis constituintes preparada na mesma proporção que foi identificada pela análise por CG e CG/EM do óleo (β -pineno = $2,5\pm 0,1\%$; *p*-cimeno = $2,4\pm 0,1\%$; (R)-limoneno = $11,8\pm 0,1\%$; aromadendreno = $0,6\pm 0,1\%$; valenceno = $0,7\pm 0,0\%$ e óxido de cariofileno = $1,8\pm 0,1\%$) (Tabela 6, Pág. 76) foi maior do que o obtido pelo óleo das folhas, mas não diferiram significativamente entre si. Resultados semelhantes mostrando provável interação sinérgica entre os constituintes químicos principais de óleos essenciais têm sido reportados na literatura, mas representando cerca de 80-99% do total da composição do óleo (MIRESMALLI *et al.*, 2006; STEFANELLO *et al.*, 2011; ROBERTSON e PREISLER, 1992; ATTIA *et al.*, 2011). Porém, nem sempre a toxicidade observada para um óleo é atribuída aos seus constituintes principais. Zhili e colaboradores (2009) reportaram para a mistura dos componentes principais do óleo de *Litsea cubeba*, representando 89.9% do total do óleo, uma toxicidade significativamente menor do que a obtida para o óleo sobre larvas de *Trichoplusia ni*. Os resultados obtidos para mistura completa dos constituintes selecionados, representando apenas 19.8% do óleo, mostrou toxicidade no nível do óleo das folhas da *E. langsdorffii*.

A conclusão preliminar que se obtém a partir dos resultados da toxicidade individual dos constituintes do óleo da *E. langsdorffii* e da mistura completa é que a toxicidade observada para essa blenda é decorrente da interação sinérgica entre os constituintes supostamente mais ativos com os menos ativos observados nos testes individuais (Tabela 8).

Com o intuito de investigar o nível de contribuição desses constituintes à toxicidade da mistura completa (blenda) com os constituintes selecionados a partir

do óleo das folhas foram avaliadas pelo método de fumigação e contato residual. As blendas foram aplicadas na concentração equivalente a do experimento com o óleo das folhas que apresentou mortalidade de $\geq 96.0\%$. As siglas referentes às formulações são mostradas nas figuras 18 e 19. A toxicidade das blendas dos constituintes mais ativos (β -pineno, *p*-cimeno e valenceno) e menos ativos (aromadendreno, (R)-limoneno óxido de cariofileno) selecionados a partir dos testes individuais foram abaixo do nível da observada para o óleo das folhas e da mistura completa (Figura 20).

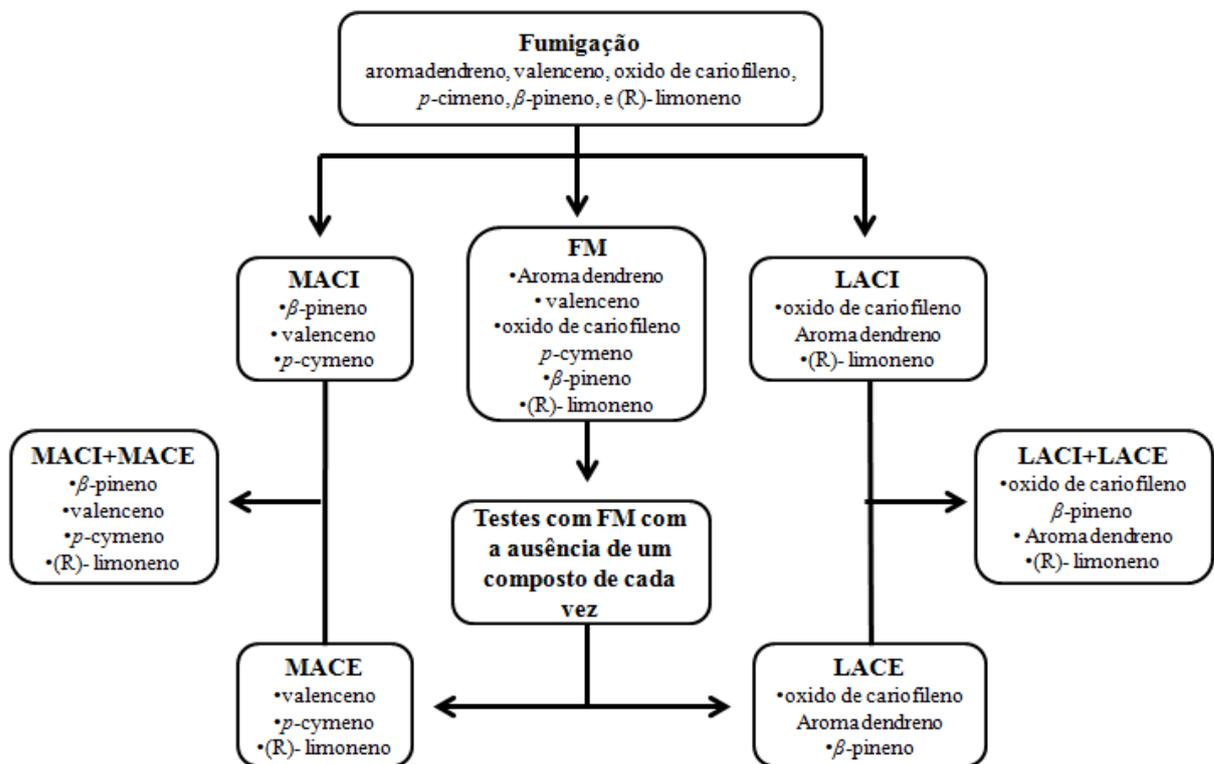


Figura 18. Constituintes do óleo das folhas de *E. langsdorffii* usados de forma individual e na forma de blendas, no teste de fumigação. FM = (Full mixture) mistura completas dos constituintes. MACI = (Most active constituents isolated) compostos mais ativos isoladamente, LACI = (Less active constituents isolated) compostos menos ativos isoladamente, MACE = (Most active components elimination) componentes mais ativo do ensaio de eliminação da mistura completa, LACE = (Less active components elimination) componentes menos ativos do ensaio de eliminação da mistura completa. MACI + MACE = Soma das duas misturas dos compostos mais ativos. LACI + LACE = Soma das duas misturas dos compostos menos ativos.

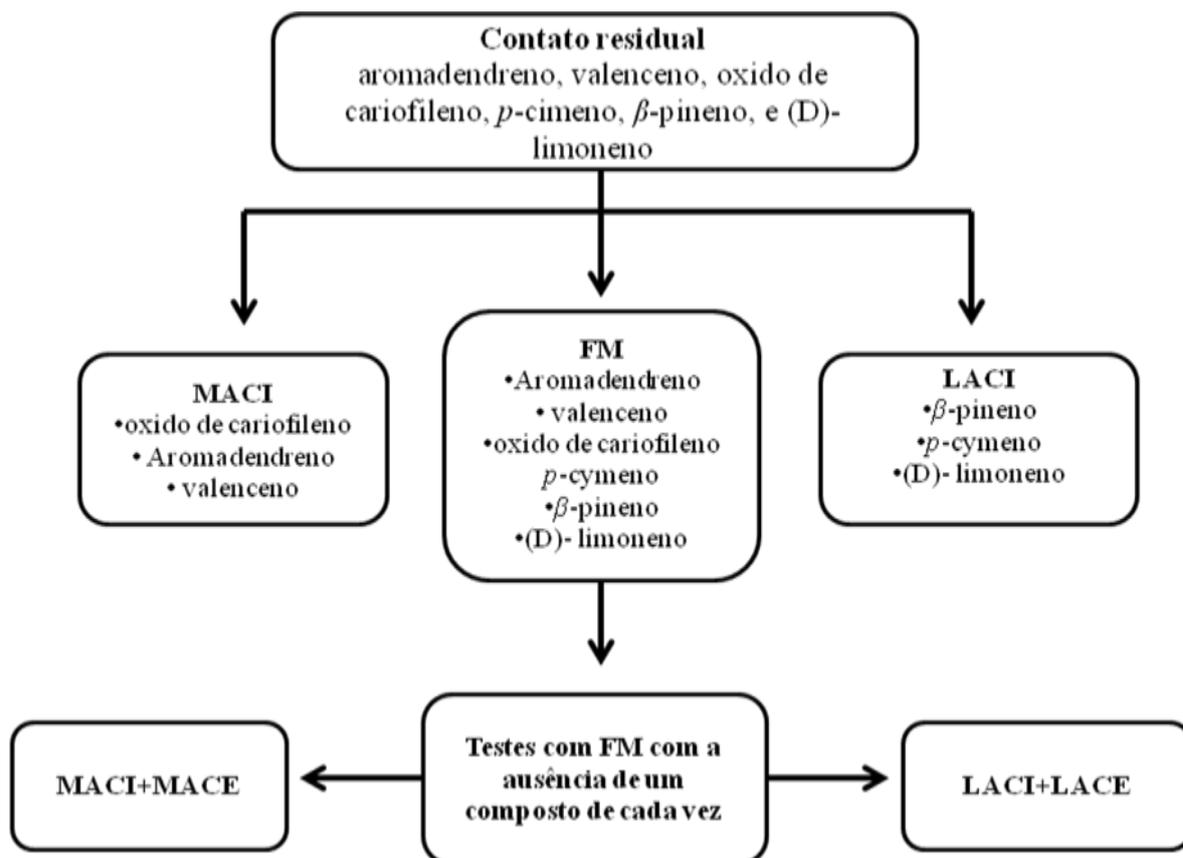


Figura 19. Constituintes do óleo das folhas de *E. langsdorffii* usados de forma individual e na forma de blendas, no teste de contato residual. FM = (Full mixture) mistura completas dos constituintes. MACI = (Most active constituents isolated) compostos mais ativos isoladamente, LACI = (Less active constituents isolated) compostos menos ativos isoladamente, MACE = (Most active components elimination) componentes mais ativo do ensaio de eliminação da mistura completa, LACE = (Less active components elimination) componentes menos ativos do ensaio de eliminação da mistura completa.

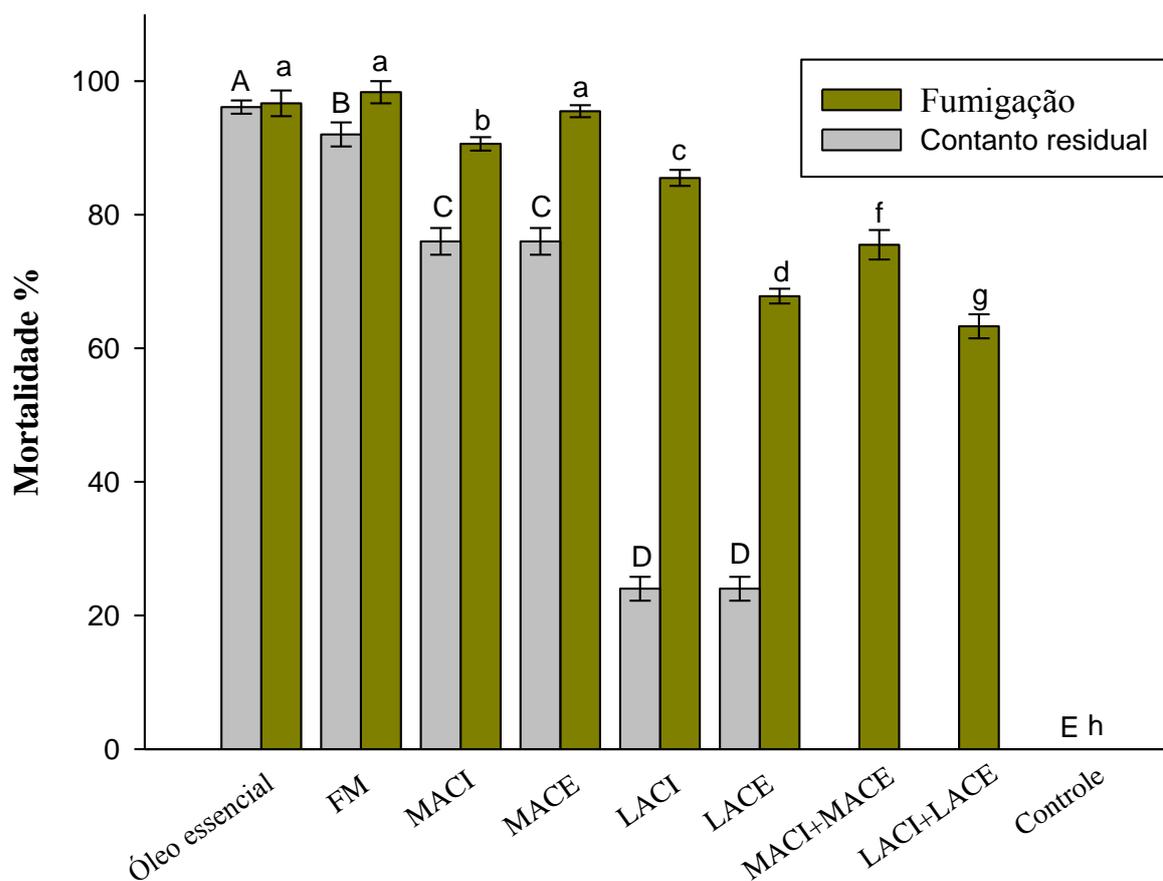


Figura 20. Toxicidade causada pelo óleo essencial, blenda completa, e blendas formuladas partir dos constituintes do óleo das folhas da *Eugenia langsdorffii* sobre o *T. urticae*. Concentrações aplicadas na mesma concentração em que o óleo apresentou mortalidade $\geq 96.0\%$ comparado com o controle. As barras de erro representam a média do erro padrão de 90 ácaros. Cada tratamento com diferentes letras são significativamente diferentes um do outro de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Apesar de ter sido um pouco maior a toxicidade promovida pelo β -pineno isoladamente, as médias de mortalidades entre esse constituinte e a blenda dos constituintes mais ativos não diferiram significativamente entre si. Por outro lado, a toxicidade apresentada pela blenda dos menos ativos foi surpreendentemente maior do que as toxicidades individuais de seus constituintes, sugerindo que os componentes dessa blenda, na proporção encontrada no óleo das folhas interagem sinergicamente entre si (Tabela 8 e Figura 20).

Com base nos resultados das toxicidades das blendas obtidas a partir dos experimentos de remoção de um dos constituintes da mistura completa foi possível selecionar outros constituintes que supostamente mais contribuem para a toxicidade dessa mistura. Os resultados apresentados na Figura 21 para essas blendas indicam que a ausência de alguns compostos, como por exemplo, *p*-cimeno, valenceno ou (R)-limoneno, causou uma significativa redução na mortalidade, o que leva a supor que esses constituintes são os mais ativos.

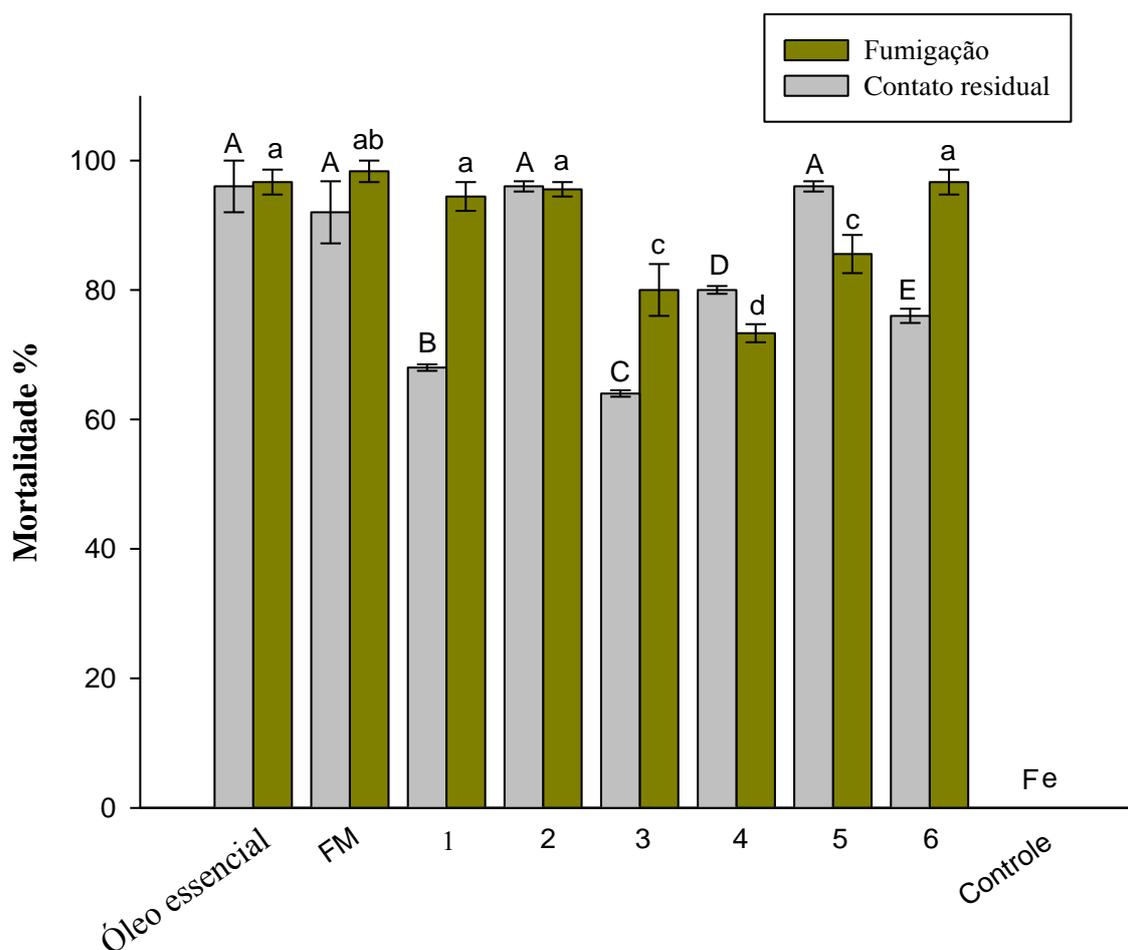


Figura 21. Toxicidade causada pelo óleo essencial, mistura completa e blendas selecionadas dos constituintes do óleo das folhas da *E. langsdorffii* sobre o *T. urticae*. Concentração aplicada equivalente a do experimento com o óleo das folhas que apresentou mortalidade de $\geq 96.0\%$. As barras de erro representam a média do erro padrão de 90 ácaros. Cada tratamento com diferentes letras são significativamente diferentes um do outro de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). FM significa a blenda dos 6 compostos, enquanto os números indicam a mistura quase completa, isto é, com a ausência do composto marcado. 1= óxido de cariofileno, 2 = β -pineno , 3 = valenceno, 4= *p*-cimeno, 5 = (R)-limoneno e 6 = aromadendreno.

Por outro lado, a ausência dos compostos β -pineno, aromadendreno e óxido de cariofileno pouco interferiram nas toxicidades das blendas, e foram selecionados como os menos ativos. Como esperado, os ácaros foram mais susceptíveis à blenda dos constituintes mais ativos e a média de mortalidade foi maior do que a do óleo das folhas, mas não diferiram significativamente entre si. Comparando as toxicidades por fumigação de todas as blendas preparadas conforme o esquema da figura 18, apenas a blenda dos constituintes mais ativos selecionados a partir dos experimentos de remoção de um composto da mistura completa superou o nível de toxicidade observada para o óleo das folhas. Esse dado sugere uma interação sinérgica entre os constituintes dessas blendas, uma vez que o nível de toxicidade observado para ela é maior do que as dos seus constituintes testados isoladamente. A toxicidade das blendas formadas pela soma dos constituintes mais ativos (MACI + MACE) e pela soma dos menos ativos (LACI + LACE) foi menor do que as toxicidades dessas blendas separadas (Figura 20), sugerindo uma interação antagonista entre os constituintes provenientes da soma das blendas.

Através da análise minuciosa da relação entre os constituintes das blendas e suas toxicidades por fumigação, pôde-se observar que com exceção da mistura completa, todas as outras preparadas com o β -pineno, o percentual de mortalidade de ácaros foi menor do que o apresentado por ele isoladamente. De fato, o β -pineno que havia sido o mais ativo dos constituintes testado isoladamente, a toxicidade da blenda obtida a partir de sua remoção da mistura completa não foi alterada drasticamente. Por outro lado, as blendas constituídas por (R)-limoneno na ausência do β -pineno, as toxicidades foram maiores comparada com a do (R)-limoneno isoladamente. Esse fato é corroborado através dos resultados obtidos para a interação entre os sesquiterpneos: óxido de cariofileno, aromadendreno com o (R)-

limoneno (LACI), que foi mais relevante à toxicidade do que a interação desses sesquiterpenos com o β -pineno (LACE). Resultados semelhantes foram observados para as interações entre valenceno, *p*-cimeno com (R)-limoneno e β -pineno nas blendas dos constituintes mais ativos, MACE e MACI, respectivamente (Figura 20). A partir desses dados pode-se concluir que entre as blendas testadas, com os constituintes nas mesmas proporções encontradas no óleo das folhas de *E. langadorffii* que mais contribuem para a toxicidade por fumigação da mistura completa é a preparadas com os compostos (R)-limoneno, *p*-cimeno e valenceno.

Os constituintes testados pelo método de fumigação revelaram diferentes toxicidades para o teste de contato residual. A percentagem de mortalidade dos constituintes individuais para esse teste a 46 μ L/ mL são mostrados na tabela 8. Entre os constituintes testados, apenas o aromadendreno apresentou toxicidade no nível do óleo das folhas e a média de mortalidade obtida para o controle positivo (eugenol = 100 \pm 0.0% de mortalidade) foi maior do que a do aromadendreno, mas não diferiram significativamente entre si (Tabela 8). As mortalidades apresentadas pelos sesquiterpenos foram acima de 80% (aromadendreno, valenceno e óxido de cariofileno), os quais foram selecionados como os constituintes supostamente mais ativos, enquanto que os monoterpenos (β -pineno, *p*-cimeno e (R)-limoneno), considerados os menos ativos. Blendas destes constituintes foram avaliadas por contato residual e o critério usado na preparação foi o mesmo utilizado para a fumigação e os constituintes foram selecionados conforme o da figura 19. As mortalidades de ácaros promovidas pelas blendas por contato residual são mostradas na figura 20. Como esperado, a blenda dos constituintes menos ativos, apresentou fraca toxicidade e a mortalidade variou de 38 a 64% (β -pineno, *p*-cimeno e (R)-limoneno). Entretanto, resultado inesperado foi obtido pela blenda dos

constituintes mais ativos (aromadendreno, valenceno e óxido de cariofileno). A toxicidade apresentada por essa blenda foi menor do que as obtidas para os sesquiterpenos individualmente (Tabela 8 e Figura 20).

Esse dado sugere que esses sesquiterpenos são antagonistas entre si. Resultado semelhante foi obtido para a mistura completa entre os constituintes. Ou seja, a média de mortalidade dessa blenda ($92,0 \pm 1,8\%$) foi menor e diferiu significativamente da média obtida para o óleo das folhas ($96,0 \pm 1,0\%$). Para confirmar o papel desses constituintes na toxicidade apresentada pelo óleo das folhas, blendas preparadas a partir da remoção de um constituinte da mistura completa foram submetidas ao teste de contato residual. Os resultados da toxicidade dessas blendas são apresentados na figura 21. Esses dados corroboram às toxicidades observadas para os constituintes individuais onde os sesquiterpenos foram os supostamente mais ativos. De fato, a remoção de qualquer um dos sesquiterpenos da mistura completa reduziu a toxicidade da blenda (Figura 21). Os resultados obtidos para essas blendas revelam ainda que o nível de toxicidade observada para o óleo das folhas só é alcançada quando o β -pineno ou o (R)-limoneno está ausente da mistura completa (Figura 21). Com base nos resultados obtidos para as blendas preparadas com β -pineno na proporção encontrada no óleo das folhas, a interação observada entre esse monoterpene e os outros constituintes foi antagonista independente do bioensaio usado, se por fumigação ou contato residual.

4. CONCLUSÕES

Neste primeiro relato da composição química e da atividade acaricida dos óleos essenciais das folhas de *O. glomerata* verificou-se que o óleo é constituído majoritariamente por sesquiterpenos, tendo o aromadendreno e o β -cariofileno como os constituintes principais.

A análise por CG/EM do óleo de *O. duckei* do estado de Pernambuco comparado com a amostra da Paraíba sugere um mesmo quimiotipo, constituído predominantemente por sesquiterpenos, e tendo o β -cariofileno, como principal constituinte.

De acordo com os tipos de experimentos utilizados, os óleos de *O. duckei* e *O. glomerata* foram eficazes sobre a fêmea adulta de *T. uticae*. Isto demonstra que o modo de ação dos óleos foi causado tanto pela ação na fase de vapor, através da penetração pelo sistema respiratório, como pelo contato direto por meio dos traços e/ou alimentação.

Os resultados apresentados para a os oleos constituintes individuais e para suas blendas revelam a relação entre os constituintes testados e a toxicidade. As propriedades observadas para essas blendas estão intrinsecamente relacionadas às proporções dos constituintes usadas na mistura e o tipo do método empregado.

O estudo químico do óleo essencial de *E. langsdorffii* revelou um perfil químico com grande quantidade de sesquiterpenos, característico das espécies desse gênero. Os resultados apresentados nesse trabalho para a toxicidade dos constituintes individuais e para suas blendas revelam a dificuldade de se estabelecer inequivocamente o princípio ativo de uma mistura complexa como um óleo essencial. Testes com as blendas preparadas com uma pequena amostra dos

constituintes desse óleo permitiram identificar a relação entre os constituintes testados e a toxicidade, bem como inferir, de acordo com o método utilizado nos bioensaios, o principal modo de ação acaricida dessas blendas. As propriedades observadas para essas blendas estão intrinsecamente relacionadas às proporções dos constituintes usadas na mistura e o tipo do método empregado.

De acordo com as propriedades fumigante e contato residual obtidas nesse trabalho para os óleos de *O. duckei*, *O. glomerata* e *E. langsdorffii*, revelou promissores acaricidas, sendo os melhores resultados encontrados para o óleo da *O. duckei*. No entanto, novos estudos são necessários para estabelecer a relação custo-benefício para ser usado como princípio ativo de uma formulação no manejo integrado do *T. urticae*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS,R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. **Allured Publishing Corporation**, 468p. 2007.

ALKOFAHI, A. J.K.; RUPPRECHT, J.E.; ANDERSON, J.L.; MCLAUGHLIN, K. L.; MIKOLAJCZAK AND SCOTT, B.A. Search for new pesticides from higher plants,. In: J.T. Arnason, B. J.R. Philogene, P. Morand (eds.). **Insecticides of plant origin. Amer. Chem. Soc., Washington**, p. 25-43, 1989.

ANTUNES, R.M.P.; LIMA, E.O.; PEREIRA, M.S.V.; CÂMARA, C.A.; ARRUDA, T.A.; CATÃO, R.M.R.; BARBOSA, T.P.; NUNES, X.P.; DIAS, C.S.; SILVA, T.M.S.; Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Rev. Bras. Farmacogn.** v.16,p. 517-524. 2006.

ARAÚJO-JUNIOR, C.P.; DA CAMARA, C. A. G.; NEVES, I. A.; RIBEIRO, N.C.; GOMES, C. A.; MORAES, M.M.; BOTELHO, P.S. 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, p. 471-476, 2010.

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

ATTIA, S.; GRISSA, K. L.; LOGNAY, G.; HEUSKIN, S.; MAILLEUX, A. C.; AND HANCE, T.; Chemical Composition and Acaricidal Properties of *Deverra scoparia* Essential Oil (Araliales: Apiaceae) and Blends of Its Major Constituents Against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) **Journal of Economic Entomology**, v.104(4), p.1220-1228, 2011.

BAITELLO, J.B., HERNANDEZ, F.L., MORAES, P.L.R., ESTEVES, R., MARCOVINO, J.R.. Lauraceae. *In*: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G. J.; MELHEM, T. S.; GIULIETTI, A. M.; KIRIZAWA, M.; (Org.). Flora fanerogamica do Estado de São Paulo –**RiMa/Fapesp**. v. 3. Sao Paulo. 2003.

BALABENI, V.; TOGNOLINI, M.; BERTONI, S.; BRUNI, R.; GUERRINI, A.; RUEDA, G. M.; BAROCELLI, E., Antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from wild *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) calices from Amazonian Ecuador. **Pharmac. Research**, v.55, n.1, p.23-30, 2007.

BARBOSA-FILHO, J. M.; CUNHA, R. M.; DIAS, C. S.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; SILVA, M. S.; DA-CUNHA, L.; EMIDIO V.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.; MEDEIROS, I. A. GC-MS analysis and cardiovascular activity of the essential oil of *Ocotea duckei*: **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.1, p.37-41, 2008.

BARBOSA-FILHO, J.M.; VARGAS M.R.W.; SILVA, I.G.; FRANÇA, I.S.; MORAIS, L.C.S.L.; CUNHA, E.V.L.; CHAVES, M.C.O.; ALMEIDA, R.N.; AGRA, M.F.; *Ocotea duckei*: Exceptional source of Yangambin and furofuran lignans. **An. Acad.Bras. Cien.** v.71, p.231-238. 1999.

BRUNI, R. M. A.; ANDREOTTI E, F. C.; MUZZOLI M, D. M.; ROMAGNOLI C.; SACCHETTI G. Chemical composition and biological activities of ishipingo essential oil, a traditional ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. **Food Chemistry**, v.85, p.415-421, 2004.

CALMASUR, O.; ASLAN, I. and ŞAHIN, F. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crops and Products**, v.23, p.140–146, 2006.

CASTRO-FARIA-NETO, H.C.; BOZZA, P.T.; BARBOSA-FILHO, J.M.; TIBIRIÇÁ, E.V.; CORDEIRO, R.S.B.; Yangambin: a new naturally occurring platelet activating

factor receptor antagonist: binding and *in vitro* functional studies. **Planta Med.** v.61,p.101-105, 1995a.

CASTRO-FARIA-NETO, H.C.; ARAUJO, C.V.; BOZZA P.T.; THOMAS, G.; BARBOSA-FILHO, J.M.; CORDEIRO, R.S.B.; TIBIRIÇÁ, E.V.; Yangambin: a new naturally occurring platelet activating factor receptor antagonist: *in vivo* pharmacological studies. **Planta Med.** v.61,p.106-112. 1995b.

CHAVERRI, C.; CICCIO, J.F.; Essential oils from *Ocotea austinii* C.K. Allen (Lauraceae) from Costa Rica. **Journal Essential Oils Reseach.**v.19, p.439-443, 2007.

CHAVERRI, C., DIAS, C., CICCIO, J.F., Chemical Analysis of Essential Oils from *Ocotea gomezii* W.C. Burger and *Ocotea morae* Gómez-Laur. (Lauraceae) Collected at "Reserva Biológica Alberto M. Brenes" in Costa Rica and their Cytotoxic Activity on Tumor Cell Lines. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 22, No. 4, 741-745, 2011.

CHOI, W. Y.; PARK, B.S; LEE, Y.H.; JANG,D.Y.; YOON, H.Y.; LEE, S.E. fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. **Crop. Prot.** v.25, n.4, p.398-401, 2006.

COUTINHO, D.F.; DIAS, C.S.; BARBOSA-FILHO, J.M.; AGRA, M.F.; MARTINS, R.M.; SILVA, T.M.S.; DA-CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S. Composition and molluscicidal activity of the essential oil from the stem bark of *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. **Journal of Essential Oil Research**, v.19, n.5, p.482-484, 2007.

COUTINHO,D.F.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO J. M. BASÍLIO, I. J.L.D.; Morfo-anatomia foliar de *Ocotea gardneri* (Meisn.) Mez. (Lauraceae-Lauroideae) Revista Brasileira de Farmacognosia **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, n.2, p.178-184, 2006.

DHARMAGADDA, V.S.S.; NAIK, S.N.; MITTAL, P.K.; VASUDEVAN, P.; Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. **Bioresource Technology**, v.96, p.1235-1240, 2005.

DIAS, C.S.; SILVA, I.G.; CUNHA, E. V.L.; SILVA, M.S.; BRAZ-FILHO, R.; BARBOSA-FILHO, J. M.; Isolamento e identificação de novos alcalóides de *Ocotea Duckei* Vattimo (Lauraceae). **Rev. Bras. Farmacogn.** v.13 (supl.),p.62-63. 2003.

FISCHER, D.C.H.; LIMBERGER, R.P.; HENRIQUES, A.T.; MORENO, P.R.H. Essential oils from leaves of two *Eugenia brasiliensis* specimens from southeastern Brazil. **J. Essent. Oil Res.** v.17,p.499-500. 2005.

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

GALLO, D.; O. NAKANO, S. S.; NETO, R. P. L.; CARVALHO, G. C.; DE BAPTISTA, E. B.; FILHO, J. R. P.; PARRA, R. A.; ZUCCHI, S. B.; ALVES, J. D.; VENDRAMIM, L.C.; MARCHINI, J. R. S.; LOPES, C. O.; 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. **Science Agricultural.** v.58, p.475-479, 2001a.

GONÇALVES, M. E. C. ET AL. 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.

HAN, J.; KIM, S.I.; CHOI, B.R.; LEE, S.G.; AHN, Y.J. Fumigant toxicity of lemon eucalyptus oil constituents to acaricide-susceptible and acaricide-resistant *Tetranychus urticae*. *Pest manag. SCI.* v.67, p. 1583-1588, 2011.

HAUSSOT, B.; GREGER, H.; MARIAN, B.; Naturally occurring lignans efficiently induce apoptosis in colorectal tumor cells. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**. v.129, p.569-576, 2003.

HERBERT, J.M.; CASTRO-FARIA-NETO, H.C.; BARBOSA-FILHO, J.M.; CORDEIRO R.S.B.; TIBIRIÇÁ, E.V. Pharmacological evidence for the putative existence of two different subtypes of PAF receptors on platelets and leukocytes; studies with yanganbim. **J. Lipid. Mediators Cell Signalling**. V.17, p.1-14, 1997.

ISMAN, M.B.; MIRESMALLI, S.; MACHIAL, C.M. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Review**, v. 9, n.1, 2010.

JOTHI, G. J.; BENNIAMIN, A.; MARIDASS, M.; RAJU, G. Identification of Essential Oils Composition and Antifungal Activity of *Eugenia Singampattiana* Fruits, **Pharmacology online**. v.2, p.727-733, 2009.

KIM, S.I.; YI, J.H.; TAK, J.H.; AHN, Y.J. Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 297-304, 2004.

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

MEDINA-HOLGUÍN, A. L.; HOLGUÍN, F.O.; MICHELETO, S.; GOEHLE, L.; SIMON, J. A.; O'CONNELL, M. A. chemotypic variation of essential oils in the medicinal plant, *Anemopsis californica*. **Phytochemistry**, v.69, p.919-927, 2008.

MENUT, C.; BESSIERE, J. M.; HASSANI, M. S.; BUCHBAUER, G.; SCHOPPER, B. Chemical and biological studies of *Ocotea comoriensis* bark essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**. v.17, n.6, p.459-461, 2002.

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

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 Manage. Sci.** v.62,p.366-371, 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.

MONTE-NETO, R.L.; BARBOSA-FILHO, J.M.; SOUSA, L.M.A.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; DIAS, C.S.; OLIVEIRA, M.R. Crude ethanolic Extract, lignoid fraction and yangambin from *Ocotea duckei* (Lauraceae) show antilaishmanial activity. **Z. Naturforsch.** v. 62,p.348-342, 2007.

MORAES, G.J. O ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) está se tornando um grave problema em diversas culturas. Cultivar Grandes Culturas. **Revista On-line** <http://www.grupocultivar.com.br/artigos/artigo.asp?id=634>, 2001.

MORAES, P.L.R.; Sinopse das Lauráceas nos estados de Goiás e Tocantins, Brasil. **Biota Neotropica**, v5 n. 2, 2005.

MORAES, G.J. and FLECHTMANN C.H.W.. Manual de Acarologia: Acarologia Básica e Ácaros de Plantas Cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos Editora, 308p. 2008.

MORAIS, L.C.S.L.; PACHÚ, C.O.; SANTOS, V.L.; BARBOSA-FILHO, J.M.; New lignan from *Ocotea duckei*. **Fitoterapia**, v.67, p557.1996.

MORAIS, L.C.S.L.; BARBOSA-FILHO, J.M.; ALMRIDA, R. N.; Central depressant effect of reticuline extracted from *Ocotea duckei* in rats and mice. **J. Ethnopharmacol**, v.62,p. 57-61. 1998a.

MORAIS, L.C.S.L.; PACHÚ, C.O.; SANTOS, V.L.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; ALMEIDA, R.N.; BARBOSA-FILHO, J.M. (+)-4-O-demethylepimagnolin A from *Ocotea duckei*. **Fitoterapia**, v. 69, p.91-92. 1998b.

MORAIS, L.C.S.L.; ALMEIDA, R.N.; CUNHA, E.V.L.; SILVA, M.S.; BARBOSA-FILHO, J.M.; GRAY, A. I. Further lignans from *Ocotea duckei*. **Pharma. Biol.** v.37, p. 144-147, 1999.

MORI, L. A.; SILVA, A. M.; LISBOA, G. e CORADIN, I. Manual de manejo do herbário fanerogâmico. Ilhéus, Centro de pesquisa do Cacau, 104p. 1889.

NEVES, I. A. ; DA CAMARA CAG ; OLIVEIRA, J. C. S. ; ALMEIDA, Argus Vasconcelos de . Acaricidal Activity and Essential oil Composition of *Petiveria alliacea* L. from Pernambuco (Northeast do Brasil).. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 23, p. 23-26, 2011.

NEVES, I. A. ; 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 Product Communications**, v. 6, p. 893-899, 2011.

PINTO-JUNIOR, A.R.; CARVALHO, R.I.N.; NETTO, S.P.; WEBER, S.H.; SOUZA, E.; FURIATTI, R.S.; Bioactivity of essential oils of Brazilian sassafrás and against lesser Mealworm. **Ciência rural**, v.40, n.3, p. 637-643, 2010.

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., A.P. TAKEMATSU and L.H. BENEDICTO. Avaliação do controle de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) através de extratos vegetais, em laboratório. **Arq. Instit. Biol.** 66:91-97, 1999a.

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

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

ROHWER, J.G. In: K. KUBITZKI; J.G. ROHWER and V. BITTRICH (eds.). The Families Lauraceae and Genera of Vascular Plants. v.2. Berlin, Springer-Verlag. p. 366-391, 1993.

SACCHETI, G.; GUERRINI, A.; NORIEGA, P.; BIANCHI, A.; BRUNI, R.; Essential oil of wild *Ocotea quixos* (Lam). Kosterm. (Lauraceae) leaves from Amazonian Ecuador.; **Flavour and fragrance Journal**, v.21, p.674-676, 2006.

SALEEM, M.; KIM, H.J.; ALI, M.S.; LEE, Y.S.; An update on bioactive plant lignans. **Natural Product Reports**. v.22, p.696-716, 2005.

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

SCORA, R. W.; SCORA, P. E. Essential leaf oil of *Persea subgenus* Eriodaphne and closely related Perseoid genera. **Journal of Essential Oil Research** , v.13, n.1, p.37-42, 2001.

SERRA, M.F.B.L.; DIAZ, E.O.; BARRETO, A.P.B.; PEREIRA, M.C.R.; LIMA, J.M.; BARBOSA-FILHO, R.S.B.; CORDEIRO, M.A.; MARTINS, P.M.R. Anti-allergic Properties of the natural PAF antagonist Yangambin. **Planta Med**. v.63, v.207-212, 1997.

SETZER, W.N.; TAKAKU, S.; STOKES, S. L.; PENTON A. F.; Inhibition of cruzain by *Ocotea* leaf essential oils from monteverde, costa rica Department of Chemistry, **Pharmacology online**, v.3, p.785-793, 2006.

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, I.G.; LACERDA, C.D.G.; BARBOSA-FILHO, J.M.; SILVA, M.S., CUNHA E.V.L.; Coclaurine from *Ocotea duckei*. **Biochem. Syst. Ecol.**, v.30, p.881-883, 2002.

SIMÕES, C.M.O. ; SPITZER, V. Óleos volateis. IN: SIMOES, C.M.O., SCHENKEL, E.P.,GOSMANN, G., MELLO, J.C. P., MENTZ, L.A. and PETROVICK, (orgs). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 467p. 2008.

STEFANELLO, M.E.A.; PASCOAL, A.C.R.F.; SALVADOR, M.J. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. **chemistry & biodiversity**. v. 8, p.73, 2011.

TAKAKU, S.; HABER, W. A.; SETZER, W. N., Leaf essential oil composition of 10 species of *Ocotea* (Lauraceae) from Monteverde, Costa Rica, Department of Chemistry, **Biochemical Systematics and Ecology**, v.35, p.525-532, 2007.

TOGNOLINI, M.; BAROCELLI, E.; BALLABENI, V.; BRUNI, R.; BIANCHI, A.; CHIAVARINI, M.; IMPICCIATORE, M. Comparative screening of plant essential oils: Phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. **Life Science**. v.78, p.1419-1432, 2006.

THACKER, J.R.M. An Introduction to Arthropod Pest Control. Cambridge University Press. 360p. 2002.

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, 463 p. 1963.

WERFF H.V.D., Asynopsis of genus *Beilchmiedia* (lauraceae) in Madagascar. *Adansonia*, v.25, p.77-92. 2003.

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.

ZHILI, JIANG, YASMIN AKHTAR, ROD BRADBURY, XING ZHANG, AND MURRAY B. ISMAN. Comparative Toxicity of Essential Oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and Blends of Their Major Constituents against the Cabbage Looper, *Trichoplusia ni*, **J. Agric. Food Chem**, v.57, p.4833–4837, 2009.

ZSCHOCKE, S.; DREWES, S.E.; PAULUS, K.; BAUER, R.; VAN STANDEN, J. Analytical and pharmacological investigation of *Ocotea bullata* (black stinkwood) bark and leaves. **Journal Ethnopharmacol**, v.71, p. 219-230, 2000.