

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO

Avaliação da Atividade Acaricida de Óleos Essenciais de *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze, *Casearia sylvestris* Sw e *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., em *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CAROLINA BECKER

LAJEADO, RS - BRASIL

2008

Avaliação da Atividade Acaricida de Óleos Essenciais de *Acanthospermum australe* (Loefl.)
O. Kuntze, *Casearia sylvestris* Sw e *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., em *Tetranychus*
urticae Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)

por

CAROLINA BECKER

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento, do
Centro Universitário UNIVATES (RS), como requisito parcial para obtenção do título de
MESTRE EM AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO.

UNIVATES

Lajeado, RS – BRASIL

2008

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO

a comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação intitulada

Avaliação da Atividade Acaricida de Óleos Essenciais de *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze, *Casearia sylvestris* Sw e *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., em *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)

elaborada por
CAROLINA BECKER

como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ambiente e Desenvolvimento

COMISSÃO EXAMINADORA:

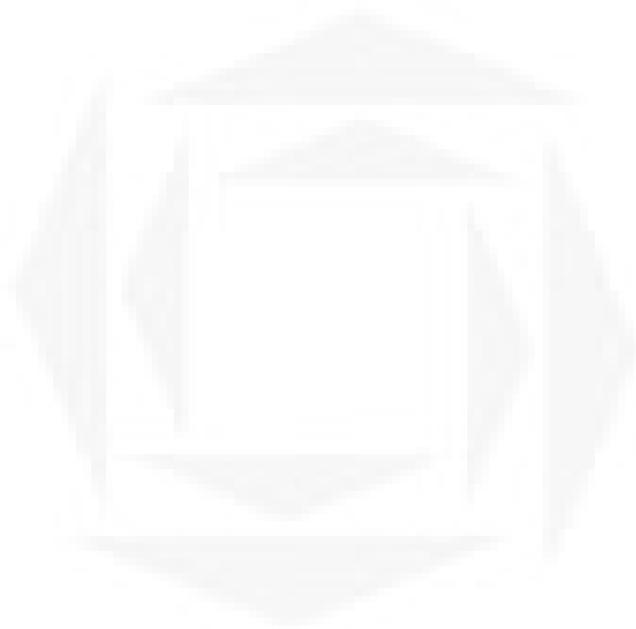
Prof. Dr. Eduardo Miranda Ethur – Orientador – UNIVATES

Prof. Dr. Noeli Juarez Ferla – UNIVATES

Prof. Dr. André Jasper – UNIVATES

Prof. Dr. Sandro Rogério Giacomelli – UNIVATES

Lajeado, 15 de maio de 2008



UNIVATES

“Tenho apenas duas mãos e o sentimento do mundo.”

Carlos Drummond de Andrade

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Darci Alfredo e Rosane Becker, pela oportunidade de adquirir sempre mais conhecimento, apoio em todas as horas e amor que demonstram em todos os momentos.

Às pessoas com quem construí uma nova família, Alexandre Porto Fransozi, Sofia e Caio, pela alegria e amor que me proporcionam, e pela oportunidade de aprender sobre a vida.

Às minhas irmãs, Graziela e Mariana Becker, pelo amor e carinho que cultivamos.

À Carmen Dora Porto Fransozi, minha sogra, pela assessoria prestada e carinho em todas as horas.

Ao meu orientador Eduardo Miranda Ethur, pelo incentivo, orientação e apoio no projeto realizado.

Ao meu co-orientador, Noeli Juarez Ferla, pelo auxílio na criação dos ácaros e dúvidas esclarecidas.

Aos professores Claudete Rempel e Eduardo Périco, pelo apoio e incentivo acadêmico, e por acreditarem e confiarem no meu potencial.

Aos bolsistas de iniciação científica do Laboratório de Química Orgânica Manuela Barth, Fabrícia Dietrich e Andressa de Souza, pelo auxílio na extração dos óleos e material fornecido.

Aos bolsistas de iniciação científica do Setor de Artrópodes do Museu de Ciências Naturais Cássio e Guilherme pelo auxílio na criação dos ácaros.

Às colegas de mestrado Crisna Letícia Kloch e Liana Johan, pela amizade e apoio prestado.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento pelo aprendizado.

A todos aqueles que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

TÍTULO: Avaliação da Atividade Acaricida de Óleos Essenciais de *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze, *Casearia sylvestris* Sw e *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., em *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)

AUTOR: Carolina Becker

ORIENTADOR: Prof. Dr. Eduardo Miranda Ethur

O uso de compostos químicos sintéticos para o controle de pragas é amplamente utilizado no cultivo de plantas, os quais desfavorecem a estabilidade ecológica de sistemas naturais. Por serem menos agressivos e possuírem mais de um princípio ativo, os pesticidas naturais de origem vegetal podem minimizar as conseqüências indesejadas. Avaliou-se no presente trabalho o potencial acaricida dos óleos essenciais das espécies vegetais *Acanthospermum australe*, *Casearia sylvestris* e *Pothomorphe umbellata*, em duas concentrações de solução etanólica (0,5% e 2,0%), além da análise de composição dos extratos destas plantas por cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Na análise de composição das plantas, os compostos em maior concentração encontrados foram β -elemeno (31,7%) e α -humuleno (28,2%) em *C. sylvestris*, apiol (46,6%) e dill apiol (14,5%) em *P. umbellata*. Em *A. australe* o elemento com maior concentração (81,0%) não foi identificado. A atividade acaricida foi constatada para as três plantas, após 72 horas na concentração 2,0%. O óleo de *Acanthospermum australe* foi o que apresentou desempenho mais próximo do acaricida comercial utilizado como controle negativo.

Palavras-chave: *Acanthospermum australe*, *Casearia sylvestris*, *Pothomorphe umbellata*, *Tetranychus urticae*, óleos essenciais, atividade acaricida

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO

Dissertação de Mestrado
Lajeado, 15 de maio de 2008.

ABSTRACT

TITLE: “Avaliation of mitecide activity of essential oils of *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze, *Casearia sylvestris* Sw e *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., against *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)

AUTHOR: Carolina Becker

ACADEMIC ADVISOR: Prof. Dr. Eduardo Miranda Ethur

The use of chemical component for the control of plagues is widely applied in the cultivate of plants, which destroy and dismount the stability ecologic of the natural system. Because they are least aggressive and possess more then one active principle in the beginning the natural pesticides of origin vegetable can minimize unwanted consequences. It was appraised in the present work the potential used of volatile oil of the vegetable species *Acanthospermum australe*, *Casearia sylvestris* and *Pothomorphe umbellata* in two concentration of ethnology solution (0.5% and 2.0%) farther on the analysis of the composition of the extracted of those plants by gaseous cromatography and of espectrometric multitude. In the analysis of the composition of the plants, the composition of greatest concentration where β -elemene (31.7%) and α -humulene (28.2%) in *C. sylvestris*, apiole (46.6%) and dill apiol (14.5%) in *P.umbellata*. In *A. australe* the element o greatest concentration (81.0%) was not identified. The activity used was reported for three plants, after 72 hours in concentration 2.0%. The oil of *Acanthospermum australe* was the one that introduce closer performace of the touched comercial utilized for a negative control.

Key words: *Acanthospermum australe*, *Casearia sylvestris*, *Pothomorphe umbellata*, *Tetranychus urticae*, essential oils, mitecidal activity.

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
MASTER PROGRAM IN ENVIRONMENT AND DEVELOPMENT

Master Dissertation in Environment and Development
Lajeado, May 15th, 2008.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
SUMÁRIO	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
I INTRODUÇÃO	1
1.1 AS ESPÉCIES VEGETAIS	3
1.1.1 <i>Casearia sylvestris</i> Sw.	3
1.1.2 <i>Acanthospermum australe</i> (Loefl.) O. Kuntze	4
1.1.3 <i>Pothomorphe umbellata</i> (L.) Miq.....	6
1.1.4 Óleos essenciais.....	7
1.2 Cromatografia gasosa (CG) e espectrometria de massa (EM)	8
1.3 Espécie animal.....	9
1.3.1 <i>Tetranychus urticae</i> Koch	9
1.3.2 Culturas atacadas por <i>Tetranychus urticae</i>	10
1.3.3 Ácaros e resistência a acaricidas	11
1.4 Atividade acaricida.....	12
1.4.1 Espécies vegetais com atividade acaricida	12
II MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 Material vegetal.....	13
2.2 Obtenção dos óleos essenciais.....	13

2.3 Análise da composição química	14
2.3.1 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas	15
2.3.2 Índice de Kovats	15
2.4 Atividade acaricida	16
2.4.1 Criação da população de <i>Tetranychus urticae</i>	16
2.4.2 Aplicação dos óleos essenciais sobre os discos de folhas	16
III APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS.....	18
3.1 Extratos vegetais.....	18
3.1.1 Óleos essenciais.....	18
3.2 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas.....	18
3.3 Atividade acaricida dos óleos essenciais	21
IV DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	23
V CONCLUSÃO.....	26
VI REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
LISTA DE ANEXOS	34

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Ramo de *Casearia sylvestris*, em estado vegetativo, demonstrando o posicionamento das folhas..... 4
- FIGURA 2 – Folhas e parte reprodutiva de *Acanthospermum australe*. 5
- FIGURA 3 – *Pothomorphe umbellata* em área de cultivo. 7
- FIGURA 4 – Exemplar de uma fêmea de *Tetranychus urticae*. 10
- FIGURA 5 – Sistema de extração de óleos essenciais com extrator do tipo Clevenger modificado. 14

UNIVATES

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição química do óleo essencial de <i>Casearia sylvestris</i>	19
TABELA 2 - Composição química do óleo essencial de <i>Pothomorphe umbellata</i>	20
TABELA 3 - Composição química do óleo essencial de <i>Acanthospermum australe</i>	21
TABELA 4 – Mortalidade corrigida pela fórmula de ABBOTT, 1925 (% média) de <i>Tetranychus urticae</i> após 12, 24, 48 e 72 horas da aplicação dos óleos essenciais, nas concentrações 0,5 e 2,0%.	22

UNIVATES

I INTRODUÇÃO

Os processos empregados no cultivo de plantas tendem a criar uma instabilidade biológica no balanço natural. Esses processos incluem a remoção de plantas competitivas, o uso de grupos de plantas obtidos por seleção, áreas de plantio para uma única cultura, fertilização, irrigação, poda, controle de pragas etc. O homem tem sido incapaz de contrabalancear estes desequilíbrios por meios naturais e ainda obter quantidade e qualidade desejadas na produção. Por esta razão, os produtos sintéticos têm sido utilizados para promover a proteção contra o decréscimo de produção ou destruição da lavoura infestada (FLECHTMANN, 1979).

A utilização de plantas inseticidas para o controle de pragas constitui em uma técnica antiga, amplamente utilizada em países tropicais antes do advento dos inseticidas sintéticos (GALLO, 2002). As plantas tropicais constituem um reservatório de substâncias que, originalmente, são empregadas na sua própria defesa contra o ataque de herbívoros (VILELA, 1990). A flora brasileira, por exemplo, é muito rica em espécies de plantas que encerram substâncias químicas com atividade inseticida (FERRACINI *et al.*, 1990).

No entanto, com o surgimento dos inseticidas organossintéticos, que haviam mostrado maior eficiência e menor custo, os inseticidas naturais de origem vegetal praticamente deixaram de ser utilizados. Porém, o uso indiscriminado dos pesticidas sintéticos levou ao aparecimento de problemas de contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais sobre organismos benéficos e aparecimento de insetos resistentes, conseqüências indesejadas que prejudicam a qualidade de vida dos seres vivos. (GALLO *et al.*, 2002)

Desta forma, o estudo com plantas para o controle de pragas ressurgiu e é amplamente pesquisado (GALLO *et al.*, 2002). O óleo de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), por exemplo, possui atividade biocida sobre aproximadamente 200 artrópodes considerados praga sem provocar efeitos adversos nos demais organismos (SAXENA, 1989)

Há diversas formas de utilização das plantas inseticidas, sendo as mais comuns os pós secos, óleos e extratos aquosos ou orgânicos (alcoólico, acetônico, clorofórmico, etc). A forma de obtenção dos extratos orgânicos pode variar de acordo com o solvente utilizado e o objetivo de obter extrato bruto ou purificado (GALLO *et al.*, 2002).

O projeto coordenado pelo Prof. Dr. Eduardo Miranda Ethur, e desenvolvido no Centro Universitário UNIVATES, aborda o estudo químico e a atividade biológica de algumas plantas, entre elas *Casearia sylvestris* Sw., *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. e *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze, todas nativas do Brasil. Como resultado destes estudos vários trabalhos foram publicados em congressos, entre eles: “Investigação farmacológica da toxicidade e avaliação antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de *Photomorphe umbellata*” e “Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato hidroetanólico de folhas de *Casearia sylvestris*” apresentados na XXII Reunião Anual da FeSBE - Federação de Sociedades de Biologia Experimental em 2007, “Avaliação da atividade biológica dos extratos aquoso e etanólico de *Casearia sylvestris*”, “Estudo farmacológico do extrato hidroetanólico de *Pothomorphe umbellata*” e “Investigação da atividade antioxidante do extrato hidroetanólico de folhas e caules de *Acanthospermum australe* (Loefl.) O.Kuntze” apresentados no XV Encontro de Química da Região Sul no ano de 2007 em Ponta Grossa, PR. Estes trabalhos foram desenvolvidos por bolsistas de iniciação científica dos cursos de Farmácia, Química Industrial e Biologia.

Com o objetivo de ampliar os conhecimentos sobre *Casearia sylvestris* Sw., *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. e *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze, os extratos etanólicos destas plantas, obtidos por hidrodestilação, foram submetidos à análise de composição através de cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Os extratos foram utilizados para testes de ação acaricida sobre *Tetranychus urticae* Koch.

1.1 AS ESPÉCIES VEGETAIS

1.1.1 *Casearia sylvestris* Sw.

O gênero *Casearia* pertence à Família Salicaceae. Este gênero possui mais de 160 espécies descritas sendo que, destas, 70 pertencem ao continente americano e 37 estão presentes no Brasil (BARROSO, 1978; JOLY, 1998). *Casearia sylvestris* Sw. tem ocorrência na Mata Atlântica, podendo ser encontrada também no cerrado (FIGURA 1). Além de ocupar diferentes ambientes, apresenta grande variação morfológica das folhas, ramos e flores (FACANALI, 2004). É conhecida popularmente como guaçatonga, chá-de-bugre, erva-de-bugre, erva-de-lagarto, entre outros nomes (HOEHNE, 1939; FACANALI, 2004; TININIS *et al.*, 2006).

Possui altura de 4-6 metros, com tronco de 20-30 cm de diâmetro. Suas folhas são um tanto assimétricas, persistentes, glabras ou ásperas, pecioladas, lanceoladas, serreadas, alternas, brilhantes em cima, dotadas de glândulas visíveis por transparência em todo o limbo, de 6-12 cm de comprimento por 3-5 cm de largura. As flores são pequenas e numerosas, de coloração esverdeada, actinomorfas, diclamídeas e hipóginas. Os frutos são cápsulas septícidas com sementes envolvidas por arilo vermelho (SCAVONE *et al.*, 1979; LORENZI, 1992). Floresce nos meses de junho a agosto e seus frutos amadurecem a partir de setembro, prolongando-se até meados de novembro (LORENZI, 1992).

Casearia sylvestris contém, entre seus componentes químicos, vários diterpenos (ITOKAWA *et al.*, 1990; MORITA *et al.*, 1991; De CARVALHO *et al.*, 1998; OBERLIES *et al.*, 2002; ESPINDOLA *et al.*, 2004), triterpenos e ácido capróico (ALONSO, 2004).



Fonte: da autora.

FIGURA 1 – Ramo de *Casearia sylvestris*, em estado vegetativo, demonstrando o posicionamento das folhas.

1.1.2 *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze

Com 25.000 espécies distribuídas em 1.100 gêneros, a família Asteraceae constitui-se na maior família dentre as Angiospermas (MARTINS *et al.*, 2006; VERDI *et al.*, 2005). No Brasil, é relatada a ocorrência de cerca de 180 gêneros (MARTINS *et al.*, 2006). Conhecida como “a família das margaridas”, é encontrada em todas as partes do mundo, com exceção da Antártica sendo, por este motivo, considerada cosmopolita (HEINRICH *et al.*, 2004; MARTINS *et al.*, 2006). É encontrada principalmente nas regiões tropicais montanhosas da América do Sul (VERDI *et al.*, 2005). A família possui plantas utilizadas na alimentação humana, plantas ornamentais e medicinais (JOLY, 1998).

Possuem aspecto extremamente variado, incluindo principalmente pequenas ervas ou arbustos e raramente árvores (VERDI *et al.*, 2005). A grande maioria (aproximadamente 98%), no entanto, é constituída por plantas de pequeno porte (JOLY, 1998). A mais importante característica morfológica é a estrutura floral que está sempre reunida em inflorescências, denominadas capítulos. Quanto às folhas, estas são muito variadas (HEINRICH *et al.*, 2004).

Acanthospermum australe (Loefl.) O. Kuntze é popularmente conhecida como carrapichinho, carrapicho-rasteiro, mata-pasto, marôto, amor-de-negro, carrapicho-de-carneiro, picão-da-prata, cordão-de-sapo, carrapicho-miúdo, chifrinho, pega-pega (LORENZI, 2000a/b; LORENZI & MATOS, 2002) (FIGURA 2). Nativa da América tropical, a espécie é uma planta herbácea, anual e prostrada, de caules pubescentes e arroxeados, medindo de 20 a 40 cm de comprimento (LORENZI, 2000a/b). É uma planta muito variável, cujas folhas podem ser simples, inteiras ou de margens irregularmente serradas, medindo de 1,5 a 3,5 cm de comprimento. Possui capítulos terminais, com poucas flores de cor amarela e seus frutos são providos de projeções rígidas. Reproduz-se por sementes (LORENZI, 2000a; LORENZI & MATOS, 2002). No Brasil, esta espécie vegetal está presente em GO, do PI até o RS e MG (ADATI *et al.*, 2006).



Fonte: Adaptado pela autora a partir de <http://cricket.biol.sc.edu/herb/a.html> 2002
FIGURA 2 – Folhas e parte reprodutiva de *Acanthospermum australe*.

Acanthospermum australe é considerada planta daninha, pois cresce em áreas agrícolas, principalmente de campos e cerrados com solo de textura arenosa, em pastagens e terrenos baldios (LORENZI, 2000a; LORENZI & MATOS, 2002). A correção das condições de fertilidade do solo geralmente leva à diminuição do nível de infestação (LORENZI, 2000a). Por dispersar-se facilmente e desenvolver-se com facilidade, protegem o solo contra a erosão (VERDI *et al.*, 2005). Tais características a elas atribuídas podem ser interessantes, se demonstrarem potencial de controle químico, já que sua dispersão e obtenção são facilitadas.

1.1.3 *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.

A família Piperaceae é predominantemente tropical, constituída de aproximadamente 2.000 espécies. Cerca de 500 espécies, pertencentes a cinco gêneros, são descritas no Brasil. Os indivíduos são ervas, arbustos ou pequenas árvores, freqüentemente epífitas ou lianas; com folhas alternas, menos freqüentemente opostas ou verticiladas, simples, com ou sem estípulas. A inflorescência geralmente é do tipo espiga, terminal, auxiliar ou oposta à folha, possui flores não vistosas, bissexuadas ou unissexuadas, aclamídeas, dispostas na axila de brácteas geralmente peltadas; fruto em forma de baga ou drupa. A família é comum nas formações florestais brasileiras, particularmente na Mata Atlântica (SOUZA & LORENZI, 2005).

Pothomorphe umbellata (L.) Miq. é um subarbusto ereto, perene, ramificado, com hastes articuladas e providas de nós bem visíveis, medindo entre 1,0 e 2,5 m (FIGURA 3). É nativa do Brasil, ocorrendo principalmente no sul da Bahia até Minas Gerais e São Paulo. Possui folhas amplas, com as bases pregueadas parecendo peltadas, cartáceas, de 15-23 cm de comprimento, com pecíolo de 18-24 cm. As flores são pequenas e discretas reunidas em inflorescências axilares espigadas de 4-8 cm de comprimento, de coloração creme-esverdeada, (LORENZI & MATOS, 2002).

Esta planta é utilizada na medicina popular, onde suas folhas, hastes e raízes são empregadas com fins diuréticos, antiepiléticos, antipiréticos, além de serem utilizadas contra doenças do fígado, inchaços e inflamações das pernas. O xarope é utilizado para febre e afecções das vias respiratórias (LORENZI & MATOS, 2002).



Fonte: Da autora

FIGURA 3 – *Pothomorphe umbellata* em área de cultivo.

1.1.4 Óleos essenciais

Óleos essenciais são compostos complexos, caracterizados por forte odor, produzidos como metabólicos secundários de algumas plantas. São obtidos por evaporação ou hidrodestilação, técnicas praticadas desde a Idade Média pelos árabes. São conhecidos por suas propriedades antissépticas, bactericidas, fungicidas, além de sua fragrância. Na natureza, os óleos essenciais exercem papel importante na proteção de plantas contra agentes externos como bactérias, fungos, vírus, insetos e animais herbívoros. Além disso, podem atrair insetos que atuam na dispersão da planta (BAKKALI *et al.*, 2007).

Os óleos essenciais geralmente contém entre 20 e 60 compostos em concentrações diferentes, sendo caracterizados por dois ou três componentes majoritários com altas concentrações (20-70%) comparado aos outros componentes presentes em menor quantidade. Geralmente, os componentes em maior porcentagem determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais (CROTEAU *et al.*, 2000; BETTS, 2001).

Por possuir um grande número de constituintes, os óleos essenciais parecem não ter ação específica na célula, mas estudos comprovaram sua ação sob vários aspectos de forma a provocar citotoxicidade em bactérias (KNOBLOCH *et al.*, 1989; SIKKEMA *et al.*, 1994;

HELANDER *et al.*, 1998; ULTEE *et al.*, 2000; Di PASQUA *et al.*, 2006), coagulação do citoplasma (GUSTAFSON *et al.*, 1998), além de danos em lipídios e proteínas (ULTEE *et al.*, 2002; BURT, 2004). Nas células eucarióticas, os óleos essenciais podem provocar despolarização das membranas mitocondriais por decréscimo do potencial da membrana, afetando o ciclo iônico Ca^{++} (RICHTER & SCHLEGEL, 1993; VERCESI *et al.*, 1997) e outros canais iônicos e redução do gradiente pH, afetando a bomba de próton e a fusão de ATP. Essas propriedades citotóxicas são de grande importância na aplicação de óleos essenciais não somente contra certos patógenos humanos ou animais, mas também na preservação de produtos agrícolas, incluindo o controle de ácaros (RIM & JEE, 2006).

1.2 Cromatografia gasosa (CG) e espectrometria de massa (EM)

Cromatografia gasosa constitui um método físico de separação dos componentes de uma mistura através de uma fase gasosa móvel sobre um sorvente estacionário. É utilizada para a separação de compostos essenciais. À medida que aumenta o caráter polar do composto e, portanto, diminui a sua volatilidade, há uma redução da possibilidade de separação através desta técnica (AQUINO NETO & NUNES, 2003).

Na cromatografia gasosa, a amostra é vaporizada e injetada no topo de uma coluna cromatográfica. A eluição é feita por fluxo de um gás inerte que atua como fase móvel. Entre os gases utilizados, encontram-se o hélio, nitrogênio e hidrogênio. A escolha do gás adequado está relacionada ao tipo de detector utilizado (SKOOG *et al.*, 2002).

A cromatografia gasosa separa os componentes de uma amostra para sua posterior determinação. A análise qualitativa tem por finalidade identificar os componentes da amostra. O parâmetro utilizado é o tempo de retenção, que é o tempo transcorrido a partir da injeção do analito até o máximo do pico gerado. A identificação qualitativa dos compostos pode ser realizada por comparação com padrões puros, comparando-se os tempos de retenção de cada padrão com os picos dos analitos; por adição dos padrões juntamente com a amostra, onde a identificação do analito é feita pelo aumento do pico do analito, antes e depois da adição; e pelo índice de retenção, sendo esta uma identificação indireta, onde o índice de retenção de uma substância é o número hipotético de carbonos que o analito teria pela posição de saída

entre duas parafinas normais. Este índice é altamente reprodutível e pode ser usado para identificação em literatura (CIENFUEGOS & VAITSMAN, 2000).

A espectrometria de massa pode ser medida pelo bombardeio de moléculas na fase de vapor com um feixe de elétrons de alta energia, registrando-se o resultado do impacto dos elétrons como um espectro de íons separados na base da razão massa/carga (m/z), sendo esta técnica denominada impacto de elétrons. Os espectros de massa são obtidos geralmente com o uso de um feixe eletrônico de energia de 70 eV (elétron-volt). A maior parte dos íons desintegra-se entre 10^{-10} a 10^{-3} s, dando, no caso mais simples, um fragmento carregado positivamente e um radical. Assim, é formado certo número de fragmentos iônicos que podem ser decompostos posteriormente em fragmentos menores (SILVERSTEIN *et al.*, 1994). No espectro de massas por impacto de elétrons, o computador gera os resultados em forma de um gráfico de barras, onde a abundância relativa dos picos é apresentada como porcentagem.

1.3 Espécie animal

1.3.1 *Tetranychus urticae* Koch

Tetranychus urticae, Koch, 1836 é conhecido como ácaro rajado ou ácaro de duas manchas. Todas as fases ativas do ácaro rajado apresentam-se de coloração esverdeada: as fêmeas medem em torno de 0,5 mm de comprimento e freqüentemente apresentam dois pares de manchas escuras no dorso (FIGURA 4). Formam compactas colônias na face abaxial das folhas, que recobrem com apreciável quantidade de teias. Os ovos são esféricos e amarelados e são postos por entre os fios de teia. O ácaro rajado tem preferência acentuada pela região mediana da planta vindo, a seguir, ocupar a região basal e depois a região distal (FLECHTMANN, 1979).



Fonte: Adaptado do Setor de Artrópodes – Museu de Ciências Naturais (MCN), UNIVATES
FIGURA 4 – Exemplar de uma fêmea de *Tetranychus urticae*.

1.3.2 Culturas atacadas por *Tetranychus urticae*

Tetranychus urticae ocorre em muitas culturas importantes de alimentos a plantas ornamentais (JEPPSON *et al.*, 1975, GAMAL *et al.*, 2007). Ataques intensos deste ácaro resultam no secamento das folhas e são favorecidos por condições de semeadura contínuas, que facilitam a infestação da cultura seguinte (FLECHTMANN, 1979).

No algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) o ácaro rajado é considerado uma praga tardia. Quando o ataque é iniciado logo após a germinação, a lavoura pode ser prejudicada. Ocorrendo mais tarde, na fase de espessamento das paredes da fibra do algodão, a infestação pode provocar prejuízos quantitativos e qualitativos, havendo perda na produção do algodão em caroço (cerca de até 30%) e prejuízos nas características da fibra. As plantas atacadas tornam-se menores em relação às não atacadas (GALLO *et al.*, 2002).

No amendoim (*Arachis hypogala* L.), o *Tetranychus urticae* é considerado praga da parte aérea, podendo surgir grandes populações em condições favoráveis, as quais unem as folhas das plantas por meio de suas teias. As folhas tornam-se cloróticas, chegando a cair em um estágio mais avançado do ataque. Nas culturas do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e ervilha (*Pisum sativum* L.) o ácaro rajado ataca a face inferior das folhas, causando o aparecimento de manchas cloróticas cuja intensidade depende do nível de infestação. Em

conseqüência do ataque, as manchas tornam-se amareladas, adquirindo a seguir a coloração avermelhada e posteriormente a queda das folhas. Da mesma forma ocorre com a soja (*Glycine max* (L.)Merr) e mamona (*Ricinus communis* L.) (GALLO *et al.*, 2002). Nos morangueiros (*Fragaria vesca* L.) o ataque acarreta uma sensível queda na produção (GALLO *et al.*, 2002; CHIAVEGATO & MISCHAN, 1981).

Os danos causados pelo ácaro rajado também atingem pomares, onde o ataque às folhas prejudica a produção. São citados nas culturas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) (OLIVEIRA, 1988; SANCHES *et al.*, 2000; VIEIRA, 2006), pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) e nectarina (*Prunus persica* var. *nucipersica* Dippel), além de ocorrerem em folhas e folhagens como cravos (*Dianthus caryophyllus* L.), crisântemos (*Chrysantemum* sp.) (VECHIA & KOCH, 1999), gerânios (*Pelargonium* sp.), dalias (*Dahlia pinnata* Carv.). Na roseira (*Rosa* sp.) provocam falta de florescimento (GALLO *et al.*, 2002).

1.3.3 Ácaros e resistência a acaricidas

A Organização Mundial de Saúde define a resistência como o desenvolvimento da habilidade em uma população em tolerar doses de um tóxico que seriam letais para a maioria dos indivíduos de uma população normal da mesma espécie (CROFT & VAN DE BANN, 1988). A resistência aos pesticidas é um exemplo de mudanças evolucionárias onde o pesticida atua como agente seletivo de indivíduos resistentes que estão em baixa frequência na população original (CROW, 1957). O processo de seleção é determinante para a evolução da resistência a pesticidas, sendo que a velocidade de desenvolvimento da resistência não é semelhante para todos os organismos (GEORGHIOU & TAYLOR, 1977).

Alguns trabalhos já verificaram o desenvolvimento da resistência do ácaro rajado ao acaricida Fenpyroximato e resistência cruzada aos acaricidas Pyridaben e Dimethoato, em apenas cinco gerações. Essa resistência selecionada levou pelo menos 12 meses para diminuir, quando não houve pressão de seleção exercida pelos acaricidas (SATO *et al.*, 2004).

1.4 Atividade acaricida

1.4.1 Espécies vegetais com atividade acaricida

Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de avaliar a atividade acaricida de compostos naturais. O extrato metanólico de *Ajuga remota* Benth apresentou efeitos de repelência e redução da fertilidade em fêmeas de *Tetranychus urticae* (SHAVER & SCHUTTERER, 1981). MANSOUR & ASCHER (1984) utilizaram extratos de sementes de *Azadirachta indica* A. Juss. e obtiveram redução na produção de ovos de *Tetranychus cinnabarinus* Boisd.. TANAKA *et al.* (1985) comprovaram a toxicidade do extrato metanólico das folhas de *Skimmia repens* Nakai contra *Tetranychus urticae*.

Os extratos acetônicos de *Lupinus termis* Forsk. e *Datura stramonium* L. demonstraram atividade ovicida sobre *Tetranychus urticae* (BARAKAT *et al.*, 1986). As soluções acetônicas de *Lavandula angustifolia* Mill., *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Salvia fruticosa* Mill. e *Ocimum basilicum* L. provocaram mortalidade em fêmeas adultas de *Tetranychus urticae* (MANSOUR *et al.*, 1986). URINOVA *et al.* (1989) comprovaram a toxicidade de ésteres isolados de *Ferula* spp. sobre *Tetranychus urticae*.

CHIASSEON *et al.* (2001) estudaram as propriedades acaricidas dos óleos essenciais de *Artemisia absinthium* L. e *Tanacetum vulgare* L., por diferentes métodos de extração, sobre *Tetranychus urticae*. Todos os óleos provocaram mortalidade, em diferentes porcentagens, sobre os ácaros estudados. POTENZA *et al.* (2006) verificaram redução significativa nas populações de *Tetranychus urticae* com aplicação de extratos aquosos de *Dieffenbachia brasiliensis* Veitch, *Ruta graveolens* L. e *Annona squamosa* L. em casa de vegetação.

II MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal.

As coletas de *Casearia sylvestris*, *Pothomorphe umbellata* e *Acanthospermum australe* foram realizadas no município de Lajeado, RS nos meses de maio, junho e julho de 2007, respectivamente. As plantas foram identificadas pelo Prof. Dr. André Jasper, do Setor de Botânica e Paleobotânica do Museu de Ciências Naturais (MCN), sendo os materiais *voucher* depositados sob forma de exsicatas no herbário do Centro Universitário UNIVATES – HVAT.

O horário de coleta, bem como as condições climáticas foram levados em consideração (SIMÕES *et al.*, 2004). As coletas foram realizadas no início da manhã, e em dias com baixa umidade relativa do ar, evitando-se assim alterações na composição dos extratos devido à interferência climática.

2.2 Obtenção dos óleos essenciais

A extração dos óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação, utilizando-se equipamento do tipo Clevenger modificado (FIGURA 5). Cada planta foi trabalhada individualmente, realizando-se o procedimento descrito a seguir.

As folhas frescas de *Casearia sylvestris* e *Pothomorphe umbellata* foram cuidadosamente separadas e inspecionadas quanto à presença de materiais estranhos e lesões ocasionadas por parasitas, assim como as raízes de *Acanthospermum australe*. Foram pesados

350,0 g de folhas de *Casearia sylvestris*, trituradas em moinho de facas. Para a extração do óleo de *Pothomorphe umbellata*, pesou-se 250,0 g de folhas que receberam o mesmo tratamento da planta anterior. As raízes de *Acanthospermum australe* foram utilizadas, pesando-se 233,0 g do material picotado com tesoura. Os óleos essenciais foram coletados após cinco horas de extração de cada planta, sendo em seguida pesados para o cálculo de rendimento.

Os óleos obtidos foram diluídos em álcool etílico nas concentrações 0,5% e 2,0% para cada planta. Estes extratos foram utilizados para os testes de ação acaricida.



Fonte: Da autora

FIGURA 5 – Sistema de extração de óleos essenciais com extrator do tipo Clevenger modificado.

2.3 Análise da composição química

Os constituintes dos óleos essenciais foram identificados através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) juntamente com a determinação do índice de retenção de Kovats (IK).

2.3.1 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas

A análise do óleo foi realizada, usando um sistema CG-EM-EM Varian compreendido por um cromatógrafo a gás CP-3900 (Walnut Creek, CA, USA) com um injetor 1077, um auto-amostrador CP-8410 e um espectrômetro de massas íon-trap (Varian Saturn 2100), pertencente ao Departamento de Química da Universidade Federal de Mato Grosso de Sul.

As separações foram realizadas usando a coluna capilar de sílica fundida ZB-5 (5%-phenyl-95%-dimethylpolysiloxane; (30 m x 0.25 mm d.i., 0.25 µm de espessura do filme) fornecida pela empresa Phenomenex (Torrance, CA, USA). A temperatura programada do forno foi de 50°C até 250 °C a 3 °C.min⁻¹. A temperatura da interface foi de 240 °C. Hélio (99,999%) foi usado como gás de arraste na pressão constante de 1.0 mL.min⁻¹. O volume injetado foi 1 µL, com razão de split de 1:20. A energia de ionização foi de 70 eV, a faixa de massa foi de 41-380 m z⁻¹.

2.3.2 Índice de Kovats

Para cálculo do índice de retenção de Kovats, foi utilizada uma mistura de padrões de alcanos (C9 a C21). Esta amostra foi diluída em n-hexano e analisada. Após, esta solução foi adicionada à amostra em estudo e analisada novamente. Os índices de retenção dos compostos foram obtidos de acordo com a equação abaixo (VAN DEN DOOL & KRATZ, 1963):

$$I_r = 100n + \Delta n \frac{tr_i - tr_n}{tr_m - tr_n}$$

onde:

I_r = índice de retenção **i**

n = número de carbonos do alcano que elui antes de **i**

m = número de carbonos do alcano que elui depois de **i**

Δn = número de carbonos do alcano que elui depois de **i** menos número de carbonos do alcano que elui antes de **i**

tr_i = tempo de retenção de **i**

tr_n = tempo de retenção do alceno que elui antes de **i**

tr_m = tempo de retenção do alceno que elui depois de **i**.

A identificação dos componentes foi baseada na comparação de seus espectros de massas com o banco de dados do sistema (NIST 2.0 e biblioteca Saturn) e pela comparação dos índices de retenção de Kovats obtidos experimentalmente, com os padrões de igual índice de retenção de acordo com literatura (ADAMS, 2001).

2.4 Ação acaricida

2.4.1 Criação da população de *Tetranychus urticae*

A criação dos ácaros foi realizada no Setor de Artrópodes do Museu de Ciências Naturais da UNIVATES, entre novembro de 2007 e janeiro de 2008.

As colônias de *Tetranychus urticae* foram estabelecidas em folhas destacadas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.), mantidos sobre espuma de náilon umedecida com água destilada no interior de bandejas plásticas. Os espécimes foram mantidos sobre a face abaxial das folhas, cujas bordas foram recobertas com tiras de algodão hidrófilo, também umedecido. Para manter a alta umidade relativa, as bandejas foram tampadas, deixando um espaço central aberto para evitar a condensação de água sobre a folha (FERLA & MORAES, 2003). As bandejas foram mantidas em câmara de germinação de $25,5 \pm 1$ °C, fotoperíodo de 12 horas e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

2.4.2 Aplicação dos óleos essenciais sobre os discos de folhas

Foram testados os óleos essenciais das plantas em duas concentrações, com cinco repetições para cada tratamento, utilizando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. Além da testemunha, ou branco, onde foi aplicado somente etanol, utilizou-se um controle negativo com o acaricida Vertimec® na concentração 0,1%, conforme dose recomendada pelo fabricante.

Foi utilizado o método de bioensaio de contato residual (JEPPSON *et al.*, 1975). Círculos de 2,0 cm de diâmetro foram recortados de folhas de feijão-de-porco para serem usados como substrato onde os ácaros foram mantidos durante os testes. Os discos de folhas foram imersos nas soluções com os extratos, branco e controle negativo durante três segundos sendo, logo após, colocados em placas de Petri de 13 cm de diâmetro sobre papel filtro umedecido em água destilada até a infestação dos ácaros, tendo assim um tempo para evaporação do solvente.

Para a introdução dos ácaros nos discos de folhas, estes foram colocados em placas de Petri de 5,8 cm de diâmetro contendo água destilada para evitar a fuga dos ácaros das folhas. Em cada placa foi colocado um círculo com a face abaxial voltada para cima. Vinte fêmeas adultas, tomadas ao acaso das colônias de manutenção, foram transferidas para cada círculo (FERLA & MORAES, 2003). Os círculos foram mantidos em câmaras de germinação de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase de 12 horas e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

A mortalidade foi avaliada 12, 24, 48 e 72 horas após a aplicação. Foram considerados mortos os ácaros que não se movimentaram quando tocados com as cerdas de um pincel, sendo os mortos retirados dos discos. As porcentagens de mortalidade dos tratamentos em relação à testemunha foram corrigidas pela fórmula de ABBOT (1925): $M_c = 100.(T-i)/T$, onde M_c = mortalidade corrigida, T = número de ácaros vivos na testemunha e i = número de ácaros vivos no tratamento. Foram considerados válidos somente os testes em que a mortalidade no tratamento testemunha foi de, no máximo, 20%. As médias de mortalidade em cada tratamento foram submetidas à Análise de Variância e comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico BIOESTAT 5.0 (AYRES, 2007).

III APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

3.1 Extratos vegetais.

3.1.1 Óleos essenciais.

O processo de hidrodestilação resultou em óleos essenciais de aspecto amarelo claro. Os rendimentos obtidos foram de aproximadamente 1,03% para as raízes de *Acanthospermum australe*, 1,30% para as folhas de *Pothomorphe umbellata* e 1,00% para as folhas de *Casearia sylvestris*.

3.2 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas.

As análises cromatográficas identificaram a maioria dos compostos das plantas estudadas. No entanto, alguns compostos constituintes das plantas estudadas não foram identificados até o presente momento.

Para as folhas de *Casearia sylvestris*, foram separados 20 compostos, dos quais quatro não foram identificados. Nesta planta, os compostos encontrados em maior quantidade foram β -elemeno (31,70%) e α -humuleno (28,20%), sendo que os outros compostos obtiveram porcentagem inferior a 10% na composição (TABELA 1, ANEXO 1).

TABELA 1 - Composição química do óleo essencial de *Casearia sylvestris*.

	Compostos ^a	%	RI ^{b c}
01	Ni	1,50	1384
02	β-elemeno	31,70	1392
03	α -gurjuneno	0,60	1412
04	<i>E</i> -cariofileno	8,80	1422
05	α -guaiano	1,00	1437
06	Ni	0,70	1443
07	<i>E</i> - β -farneseno	0,60	1454
08	α-humuleno	28,20	1458
09	β -chamigreno	0,60	1475
10	Germacreno-D	3,80	1482
11	Ni	1,70	1486
12	Valenceno	2,60	1491
13	Biciclogermacreno	5,00	1497
14	Ni	1,00	1501
15	α -bisaboleno	1,60	1505
16	Germacreno-A	5,20	1509
17	γ -cadineno	0,20	1515
18	δ -cadineno	0,30	1520
19	β -eudesmol	0,90	1658
20	Epi- α -eudesmol	1,30	1661
	TOTAL	97,30	

^aCompostos listados em ordem de eluição na coluna ZB-5; ^bIdentificação: RI, índice de retenção, GC-MS, cromatografia gasosa-espectrometria de massas; ^cTemperatura programada, índice de retenção determinado na coluna apolar ZB-5 (50-250 °C; 3 °C min⁻¹).

A TABELA 2 apresenta a composição química do óleo essencial das folhas de *Pothomorphe umbellata*, onde foram separados 28 compostos, dos quais cinco não estão identificados. Os compostos com maior porcentagem nesta planta foram apiol (46,60%), seguido de dill apiol (14,50%). Os outros compostos não apresentaram concentração superior a 10% (ANEXO 2).

TABELA 2 - Composição química do óleo essencial de *Pothomorphe umbellata*.

	Compounds^a	%	RI^{b c}
01	Anetol	9,70	1293
02	δ -elemeno	0,22	1332
03	α -copaeno	0,10	1376
04	(<i>E</i>)-cariofileno	0,50	1420
05	β -gurjuneno	0,10	1431
06	Aromadendreno	0,12	1439
07	Ni	0,12	1471
08	Germacreno-D	0,13	1482
09	Biciclogermecreno	1,50	1497
10	Ni	0,23	1507
11	Cubenol	0,40	1517
12	δ -cadineno	0,75	1521
13	Miristicina	2,00	1525
14	Elemicina	0,70	1551
15	(<i>E</i>)-nerolidol	1,20	1563
16	Espatulenol	1,70	1580
17	Ni	0,46	1589
18	Guaiol	0,20	1597
19	Ni	0,54	1610
20	10- <i>epi</i> - γ -eudesmol	0,25	1616
21	Dill apiol	14,50	1627
22	γ -eudesmol	1,40	1638
23	Epi- α -cadinol	0,30	1640
24	Hinesol	0,55	1645
25	α -muurulol	0,50	1649
26	7- <i>epi</i> - α -eudesmol	8,30	1663
27	Apiol	46,60	1685
28	Ni	1,16	1703
	TOTAL	94,24	

^aCompostos listados em ordem de eluição na coluna ZB-5; ^bIdentificação: RI, índice de retenção, GC-MS, cromatografia gasosa-espectrometria de massas; ^cTemperatura programada, índice de retenção determinado na coluna apolar ZB-5 (50-250 °C; 3 °C min⁻¹).

A cromatografia do óleo essencial das raízes de *Acanthospermum australe* apresentou sete compostos distintos, sendo que o constituinte de maior porcentagem (81%) não foi identificado. Nesta planta apenas três dos sete compostos separados foram identificados: timol (4,70%), cimen-7-ol (1,20%) e carvacrol (0,18%) (TABELA 3, ANEXO 3).

TABELA 3 - Composição química do óleo essencial de *Acanthospermum australe*.

Compostos ^a		%	RI ^{b c}
01	Timol	4,70	1285
02	Cimen-7-ol	1,20	1293
03	Carvacrol	0,18	1301
04	Ni	81,00	1477
05	Ni	5,20	1506
06	Ni	5,00	1568
07	Ni	0,25	1572
TOTAL		97,53	

^aCompostos listados em ordem de eluição na coluna ZB-5; ^bIdentificação: RI, índice de retenção, GC-MS, cromatografia gasosa-espectrometria de massas; ^cTemperatura programada, índice de retenção determinado na coluna apolar ZB-5 (50-250 °C; 3 °C min⁻¹).

3.3 Ação acaricida dos óleos essenciais

Os ácaros vivos foram contados 12, 24, 48 e 72 horas após a aplicação dos óleos essenciais.

As porcentagens de mortalidade dos tratamentos em relação à testemunha foram corrigidas pela fórmula de ABBOT (1925): $Mc = 100 \cdot (T-i)/T$, onde Mc = mortalidade corrigida, T = número de ácaros vivos na testemunha e i = número de ácaros vivos no tratamento. Este procedimento é realizado para eliminação das interferências do meio sobre a mortalidade dos ácaros. Foram considerados válidos somente os testes em que a mortalidade no tratamento testemunha foi de, no máximo, 20% (TABELA 4).

TABELA 4 – Mortalidade corrigida pela fórmula de ABBOTT, 1925 (% média) de *Tetranychus urticae* após 12, 24, 48 e 72 horas da aplicação dos óleos essenciais, nas concentrações 0,5 e 2,0%.

Tratamento	12 horas	24 horas	48 horas	72 horas
Testemunha	0,00 a	0,00 a	0,00 a	2,29 a
<i>P. umbellate</i> (0,5%)	2,04 a	1,07 a	2,22 a	25,80 a
<i>P.umbellata</i> (2,0%)	26,53 ac	26,60 ac	61,11 bc	89,57 b
<i>C. sylvestris</i> (0,5%)	7,14 a	4,37 a	10,00 a	22,32 a
<i>C. sylvestris</i> (2,0%)	3,06 a	0,27 a	37,50 ac	72,46 b
<i>A. australe</i> (0,5%)	1,02 a	4,25 a	11,11 a	21,16 a
<i>A. australe</i> (2,0%)	50,26 bc	58,78 bc	88,89 b	100,00 b
Vertimec® (0,1%)	89,80 b	100,00 b	100,00 b	100,00 b

Valores seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

IV DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Alguns dos principais constituintes do óleo essencial de *Acanthospermum australe* não foram identificados, pois não constam nas bibliotecas do CG-EM. Uma amostra do óleo, purificada, foi encaminhada para o Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, RS, para determinação estrutural por Ressonância Magnética Nuclear. Os espectros feitos até o momento não permitem a elucidação estrutural, sendo necessária a realização de novos experimentos, especialmente de 2D.

Todas as plantas avaliadas tiveram percentual de mortalidade acima de 70% na maior concentração testada, 72 horas após a aplicação dos óleos. Os resultados demonstraram uma diferença significativa entre as concentrações utilizadas, após 48 horas da aplicação. Para a mesma concentração, não houve diferença significativa na mortalidade após 72 horas da aplicação das soluções nas três plantas testadas.

Acanthospermum australe (2,0%) matou os ácaros já nas primeiras 12 horas, enquanto que as outras plantas necessitaram de mais tempo para manifestar resposta frente aos ácaros. Este desempenho pode ser considerado excelente se comparado com a atividade dos óleos essenciais de outras plantas estudadas (PONTES, 2006; POTENZA *et al.*, 2006).

Componentes de plantas incluindo γ -terpineno, pulegona, (*E*)-anetol, carvacrol, timol, cimol, α -terpineno, linalool, eugenol, metil eugenol e metil cavicol são conhecidamente tóxicos para insetos e ácaros (OBENG-OFORI & REICHMUTH, 1997; TUNC & SAHINKAYA, 1998; ISMAN *et al.*, 2001; TAPONDJOU *et al.*, 2002; PASCUAL-VILLALOBUS & BALLESTA-ACOSTA, 2003). Dos componentes citados, timol e

carvacrol estão presentes no óleo essencial das raízes de *Acanthospermum australe*, podendo ser os responsáveis pela mortalidade dos ácaros. Além disso, todos os componentes identificados até o momento nesta planta são monoterpenos, os quais podem causar interferência tóxica nas funções bioquímicas e fisiológicas em herbívoros (DUNKEL & SEARS, 1998).

Comparando-se com o acaricida testado, Vertimec®, a planta que obteve um desempenho mais próximo foi *Acanthospermum australe* (2,0%). Este óleo foi o único a aproximar-se dos resultados do acaricida já com 12 horas de contato com os ácaros. Esta planta apresenta elevada produção de sementes, eficientes mecanismos de disseminação e dormência e rápido desenvolvimento (LORENZI, 2000). Tais características podem ser interessantes, já que sua dispersão e obtenção são facilitadas.

Para futuros estudos, podem ser avaliadas concentrações entre aquelas utilizadas neste trabalho, para verificar a possibilidade de diminuição da concentração mantendo-se a ação acaricida, proporcionando assim, maior rendimento dos óleos extraídos. Poderiam ainda ser testados outros tipos de extratos, com métodos de extração facilitados para a produção dos mesmos na propriedade dos agricultores, como uma forma mais barata e ecológica de aplicação de controle de *Tetranychus urticae*.

As plantas testadas poderiam ser aplicadas em campo pelo fato de serem facilmente encontradas na natureza, tendo-se assim quantidades suficientes para a manutenção das lavouras. O agricultor poderia cultivar as plantas com atividade acaricida, barateando o custo de suas aplicações e mantendo as espécies sem a necessidade de extração em áreas nativas.

O solvente etanol, escolhido para a produção dos extratos, foi eficaz em extrair compostos detectados no material vegetal fresco. No entanto, o uso de um solvente tão volátil dificultou a forma de aplicação dos óleos nas folhas, pois a alta volatilização não permitiu a fumigação dos óleos.

Não é possível relacionar a toxicidade dos óleos essenciais sobre os ácaros com um constituinte exato em sua constituição. Esta toxicidade pode ser de responsabilidade de um único composto, ou de uma associação de compostos da planta. A planta que apresentou maior atividade acaricida foi aquela que teve sua composição com a maioria dos constituintes

não identificados. São necessários mais estudos para avaliar a relação entre a atividade e a constituição dos óleos aplicados.



V CONCLUSÃO

A cromatografia gasosa aliada a espectrometria de massas e o índice de Kovats, demonstraram ser uma ferramenta importante na determinação dos constituintes dos óleos essenciais. Porém a falta de alguns padrões puros na biblioteca utilizada não permitiu a identificação de todos os constituintes, sendo necessário o uso de técnicas mais avançadas para a sua identificação.

Foram verificados 20 constituintes no óleo essencial de *Casearia sylvestris*, cerca de 97%, sendo os constituintes majoritários o β -elemeno (31,7%) e o α -humuleno (28,2%). Para a *Pothomorphe umbellata*, foram verificados 28 constituintes, cerca de 94%, sendo os constituintes majoritários o dill apiol (14,5%) e o apiol (46,6%). Já para o óleo essencial de *Acanthospermum australe*, foram verificados sete constituintes, 97,5%, sendo que o constituinte majoritário não pôde ser identificado por CG-EM e índice de Kovats.

Na maior concentração (2,0%) as três plantas apresentaram ação acaricida após 72 horas da aplicação, podendo ser uma alternativa, substituindo acaricidas sintéticos.

O óleo de *Acanthospermum australe*, na concentração 2,0%, foi o que obteve os melhores resultados, semelhantes ao acaricida comercial utilizado como controle negativo, apresentando atividade 12 horas após a aplicação.

VI REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology** 18:265-267.
- ADAMS, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois, 456p.
- ADATI, R. T.; TEMPONE, A. G.; JUNIOR, H. A.; FERRO, V. O. , 2006 Estudo botânico, avaliação da atividade *in vitro* do extrato hidroetanólico e clorofórmico de partes aéreas de *Acanthospermum australe* (Loefl.) O. Kuntze sobre o clone AJ de *Plasmodium chabaudi* e formas promastigotas de *Leishmania* (L.) *chagasi*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42(1): 94.
- ALONSO, J., 2004. **Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos**. Corpus Libros, Rosario, Argentina, 577–579.
- AQUINO NETO, F.R.; NUNES, D.S.S., 2003. **Cromatografia: Princípios básicos e Técnicas afins**. Rio de Janeiro: Interciência. 187p.
- AYRES, M.; AYRES, M. Jr; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. , 2007. BioEstat: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Bio-Médicas. Belém, PA, 324p.
- BAKKALI, F. *et al.*, 2007. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**.
- BARAKAT, A.A.; SHEREEF, G.M.; ABDALLAH, S.A.; AMER, S.A.A., 1986. Effects the some pesticides and plant extracts on some biological aspects of *Tetranychus urticae* Koch. **Bulletin of the Entomological Society of Egypt**, 14: 225-232.
- BARROSO, G.M., 1978. **Sistemática de Angiospermas no Brasil**. São Paulo: Editora Universidade de São Paulo. vol. 1
- BETTS, T.J., 2001. Chemical characterisation of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. **Journal of Chromatography**. A 936: 33-46.

BURT, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiological**, 94: 223-253.

CHIASSEON, H.; BELANGER, A.; BOSTANIAN, N.J.; VINCENT, C.; POLIQUIN, A., 2001. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. **Journal of Economic Entomology**, 49(1):167-171.

CHIAVEGATO, L.G. & MISCHAN, M.M., 1981. Efeito de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) Bousdreaux & Dosse, 1963 (Acari: Tetranychidae) na produção do morangueiro (*Fragaria* sp.). Campinas. **Científica** 9: 257-266.

CIENFUEGOS, F. & VAITSMAN, D., 2000. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 606p.

CROFT, B.A.; VAN DE BANN, H.E., 1988. Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticides resistance in tetranychid and phytoseiid mites. **Experimental & Applied Acarology**, 4(3): 277-300.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M.; LEWIS, N.G., 2000. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds.), **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists.

CROW, J., 1957. Genetics of insect resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology**, 2: 227-246.

De CARVALHO, P.R.F., FURLAN, M., YOUNG, M.C.M., KINGSTON, D.G.I., BOLZANI, V.S., 1998. Acetylated DNA-damaging clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris*. **Phytochemistry**, 49: 1659–1662.

Di PASQUA, R.; HOSKINS, N.; BETTS, G.; MAURIELLO, G., 2006. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54: 2745-2749.

DUNKEL, F.V. & SEARS, L.J., 1998. **Journal of Stored Products Research**, 34: 307.

ESPÍNDOLA, L.S., VASCONCELOS, J.J.R., De MESQUITA, M.L., MARQUIE, P., De PAULA, J.E., MAMBU, L., SANTANA, J.M., 2004. Trypanocidal activity of a new diterpene from *Casearia sylvestris* var. lingua. **Planta Medica**, 70: 1093–1095.

FACANALI, R., 2004. **Ecologia De Populações de Espécies Prioritárias para Conservação e Uso: um estudo de Caso, usando como Modelo a Casearia sylvestris Sw**. Dissertação. Mestrado em Ecologia - Universidade Estadual de Campinas - SP.

FERLA, N.J. & MORAES, G.J. DE, 2003. Efeito de diferentes concentrações de acaricidas e inseticidas-acaricidas sobre *Calacarus heveae* Feres, 1992 e *Tenuipalpus heveae* Baker, 1945 (Acari: Eriophyidae e Tenuipalpidae). **Acta Biologica Leopoldensia**, 25(2): 179-185.

FERRACINI, V.L.; CAPALBO, D.M.F.; NARDO, E.A.B. de; ZAVATTI, L.M.S.; SATTO, M.L.; FRIGHETTO, R.T.S.; SILVA, S.R. da; SOUZA, L.G.A. de; RIZZOLI, P.R. STEFANUTO, M.A., 1990. Prefácio do evento: WORKSHOP Sobre Produtos Naturais no Controle de Pragas, Doenças e Plantas Daninhas, 1., 1990, Jaguariúna, SP. Anais. Jaguariúna: EMBRAPA/CNPDA, P.11-12.

FLECHTMANN, C.H.W., 1979. **Ácaros de importânica agrícola**. 3^a ed. São Paulo: Nobel, 189p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA-NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C., 2002. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ. 920p.

GAMAL, A. El K.; SHARABASY, H.M. El; MAHMOUD, M.F.; BAHGAT, I.M., 2007. Toxicity of Two Potential Bio-insecticides Against Moveable Stages of *Tetranychus urticae* Koch. **Journal of Applied Sciences Research**, 3(11): 1315-1319.

GEORGHIOU, G.P. & TAYLOR, C.E., 1977. Operational influences in the evolution of insecticides resistance. **Journal of Economic Entomology**, 70(5): 319-323.

GUSTAFSON, J.E.; LIEW, Y.C.; CHEW, S.; MARKHAM, J.L.; BELL, H.C.; WYLLIE, S.G.; WARMINGTON, J.R., 1998. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, 26: 194-198.

HEINRICH, M.; BARNES, J.; GIBBONS, S.; WILLIAMSON, E. M. , 2004. **Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy**. 3.ed. London: Churchill Livingstone.

HELANDER, I.M.; ALAKOMI, H.L.; LATVA-KALA, K.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POL, I.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M.; VON WRIGHT, A., 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46: 3590-3595.

HOEHNE, F.C., 1939. **Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais**. Graphics, São Paulo, 196-199.

ISMAN, M.B.; WAN, A.J.; PASSREITER, C.M., 2001. Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm, *Spodoptera littura*. **Fitoterapia** 72: 65-68.

ITOKAWA, H., TOTSUKA, N., MORITA, H., TAKEYA, K., IITAKA, Y., SCHENKEL, E.P., MOTIDOME, M., 1990. New antitumor principles, casearins A-F, for *Casearia sylvestris* Sw. (*Flacourtiaceae*). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 38,3384-3388.

JEPPSON, L.R.; KIEFER, H.H. & BAKER, E.W., 1975. **Mites injurious to economic plants**. Berkeley: University of California Press, 614p.

JOLY, A.B. 1998. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 12.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional. (Biblioteca Universitária. Série 3 – Ciências Puras, v. 4).

KNOBLOCH, K.; PAULI, A.; IBERL, B.; WEIGAND, H.; WEIS, N., 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. **Journal of Essencial Oil Research**, 1: 119-128.

LORENZI, H., 1992. **Árvores Brasileiras**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, .

LORENZI, H., 2000a. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.

LORENZI, H., 2000b. **Manual de identificação e de controle de plantas daninhas**: plantio direto e convencional. 5.ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum.

LORENZI, H. & MATOS, F.J.A., 2002. **Plantas medicinais do Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.

LORENZI, H., 2002. **Árvores Brasileiras**. Nova Odessa, SP : Instituto Plantarum , .

MANSOUR, F.A. & ASCHER, K.R.S., 1984. **Effects of neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts from different solvents on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus***. Neem Conference, 2, 1984. Rauschholzhausen Proceedings, Rauschholzhausen p. 461-470.

MANSOUR, F.; RAVID, V.; PUTIEVSKY, E., 1986. Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. **Phytoparasitica**, 14(2); 137-142.

MARTINS, L. R. R.; CORTEZ, L. E. R.; DIAS-FILHO, B. P.; NAKAMURA, C. V.; FERREIRA, A. G.; CORTEZ, D. A. G. , 2006. Atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de ¹H e ¹³C do acetato de acantoaustralida. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16(4): 490-496.

MORITA, H., NAKAYAMA, M., KOJIMA, H., TAKEYA, K., ITOKAWA, H., SCHENKEL, E.P., MOTIDOME, M., 1991. Structures and cytotoxic activity relationship of casearins, new clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 39, 693–697.

OBENG-OFORI, D.& REICHMUTH, C., 1997. Bioactivity of eugenol, a major component of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored product Coleoptera. **International Journal of Pest Manage**, 43: 89-94.

OBERLIES, N.H., BURGESS, J.P., NAVARRO, H.N., PINOS, R.E., FAIRCHILD, C.G.R., PETERSON, R.W., SOEJARTO, D.D., FARNSWORTH, N.R., KINGHORN, ., WANI, M.C., WALL, M.E., 2002. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**, 65: 95–99.

OLIVEIRA, C.A.L., 1988. Ácaros do mamoeiro. In: RUGGIERO, C. ed. **Mamão**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 428 p.

PASCUAL-VILLALOBUS, M.J.& BALLESTA-ACOSTA, 2003. Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oil on *Collosobruchus maculatus*. **Biochemical Systematics and Ecology**, 31: 673-679.

PONTES, W.J.T., 2006. **Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais de espécies nativas de Pernambuco sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola – Universidade Federal Rural de Pernambuco – PE.

POTENZA, M.R.; GOMES, R.C.O.; JOCYS, T.; TAKEMATSU, A.; RAMOS, A.C.O., 2006. Avaliação de Produtos Naturais para o Controle do Ácaro Rajado *Tetranychus urticae* (KOCH, 1836) (ACARI: TETRANICHIDAE) em Casa de Vegetação. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, 73(4):455-459.

RICHTER, C.; SCHLEGEL, J., 1993. Mitochondrial calcium release induced by prooxidants. **Toxicological Letters**, 67: 119-127.

RIM, I.S. & JEE, C.H., 2006. Acaricidal effects of herb essential oils against *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae) and quantitative analysis of a herb *Mentha pulegium* (pennyroyal). **Korean Journal of Parasitology**, 44: 133-138.

SANCHES, N.F.; NASCIMENTO, A.S.; MARTINS, D.S.; MARIN, S.L.D., 2000. Pragas. In: RITZINGER, C.H.S.P., SOUZA, J.S. **Mamão: Fitossanidade**. Brasília: EMBRAPA Comunicação para Transferência de Tecnologia, 91 p.

SATO, M.E.; MYATA, T.; Da SILVA, M.; RAGA, A.; De SOUZA FILHO, M.F., 2004. Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, cross-resistance and stability of fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Applied Entomological Zoology**, 39: 293-302.

SAXENA, B.P., 1989. Insecticides from neem. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (eds.), **Insecticides of Plant Origin**. ACS Symposium Series N. 387, American Chemical Society, Washington, DC, pp. 110-135.

SCAVONE, O.; GRECCHI, R.; PANIZZA, S.; SILVA, R.A.P.S., 1979. **Anais de Farmácia e Química de São Paulo**, 19(1): 73-81.

SHAVER, M & SCHUTTERER, H., 1981. Effect of freshly squeezed juices and crude extracts of the Labiate *Ajuga remota* on the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. **Zeitschrift für Angewandte Entomologie**, 91(5):425-433.

SIKKEMA, J.; De BONT, J.A.M.; POOLMAN, B., 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. **Journal of Biological Chemistry**, 269: 8022-8028.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRIL, T.C., 1994. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5 ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 387 p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.), 2004. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A., 2002. **Princípios de Análise Instrumental**. Porto Alegre: Bookman. 5 ed.

SOUZA, V.C. & LORENZI, H., 2005. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP : Instituto Plantarum.

TANAKA, H.; AHN, J.W.; KATAYAMA, M.; WADA, H.; MARUMO, S.; OSAKA, Y., 1985. Isolation of two ovicidal substances against two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch, from *Skimmia repens* Nakai. **Agricultural and Biological Chemistry**, 49(7): 2189-2190.

TAPOUNJOU, L.A.; ADLER, C.; BOUDA, H.; FONTEM, D.A., 2002. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six stored product beetles. **Journal of Stored Products Research**, 38: 395-402.

TININIS, A. G., ASSONUMA, M.M., TELASCREA, M., PEREZ, C.C., SILVA, M. R.S.R.M., FAVORETO, R., CAVALHEIRO, A.J., 2006. Composição e variabilidade química de óleo essencial de *Casearia sylvestris* Sw. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Botucatu, 8(4): 132-136.

TUNC, I. & SAHINKAYA, S., 1998. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 86: 183-187.

ULTEE, A.; KETS, E.P.; ALBERDA, M.; HOEKSTRA, F.A.; SMID, E.J., 2000. Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacol. **Archives of Microbiology**, 174: 233-238.

ULTEE, A.; BENNIK, M.H.; MOEZELAAR, R., 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**, 68: 1561-1568.

URINOVA, K.H.Z.; UMAROV, A.A;GOLOVINA, L.A.; SAGITDINOVA, G.V., 1989. Biological activity of complex esters. **Zashchita Rastenii Moskva**, 7: 29.

VAN DEN DOOL, H. & KRATZ, P.D., 1963. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, 11: 463-471.

VECCHIA, P.T.D.; KOCH, P.S., 1999. História e perspectivas da produção de hortaliças em ambiente protegido no Brasil. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, 20(200/201): 5-10.

VERCESI, A.E.; KOWALTOWSKI, A.J.; GRIJALBA, M.T.; MEINICKE, A.R.; CASTILHO, R.F., 1997. The role of reactive oxygen species in mitochondrial permeability transition. **Bioscience Reports**, 17: 43-52.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. , 2005 Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Revista Química Nova**, 28,(1): 85-94.

VIEIRA, M.R.; SACRAMENTO, L.V.S.; FURLAN, L.O.; FIGUEIRA, J.C.; ROCHA, A.B.O., 2006. Efeito acaricida de extratos vegetais sobre fêmeas de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, 8(4): 210-217.

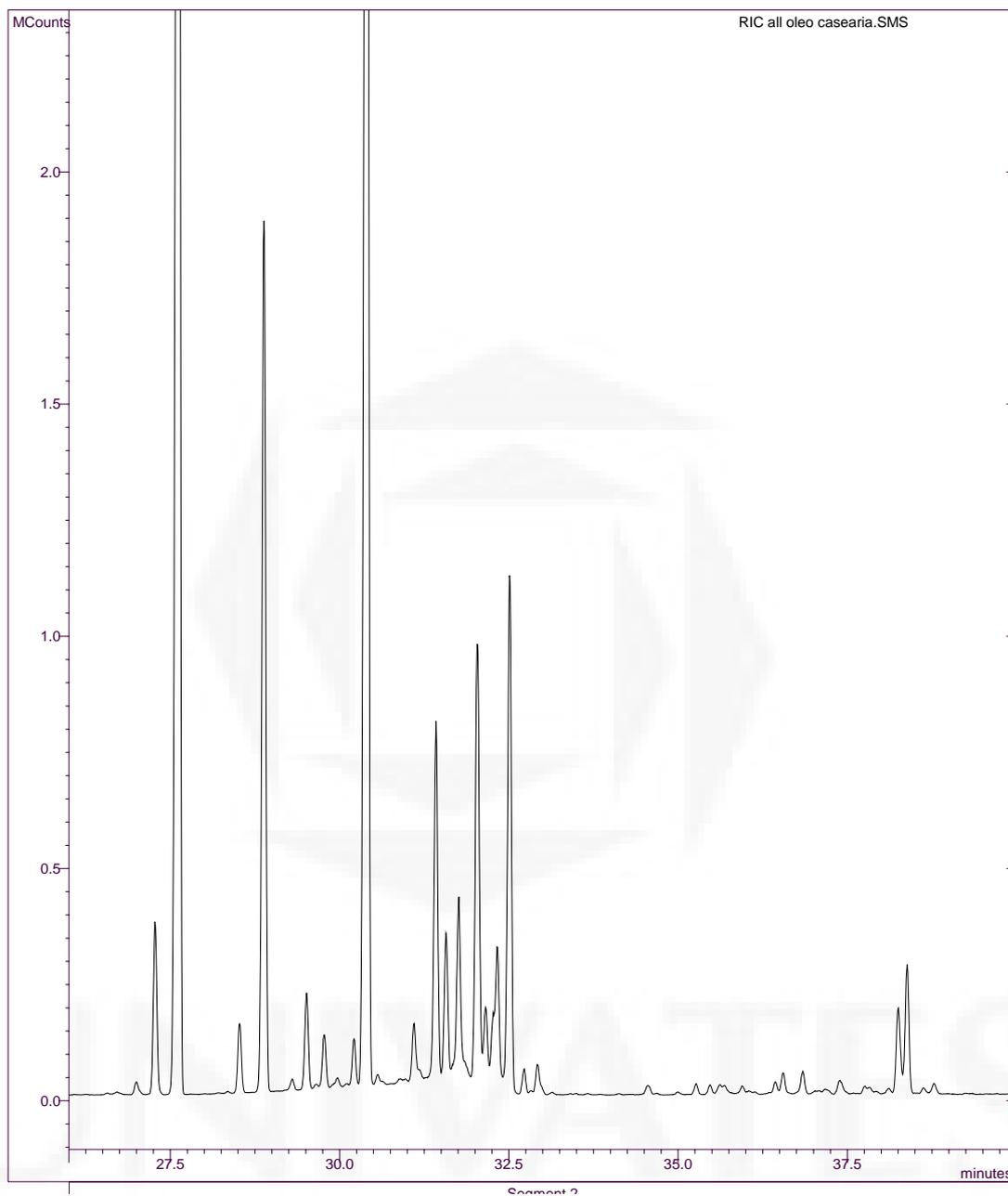
VILELA, E.F., 1990. Produtos Naturais no Manejo de Pragas. In: WORKSHOP Sobre Produtos Naturais no Controle de Pragas, Doenças e Plantas Daninhas,1. Jaguariúna. *Anais*. Jaguariúna: EMBRAPA/ CNPDA, p. 15-18.

LISTA DE ANEXOS

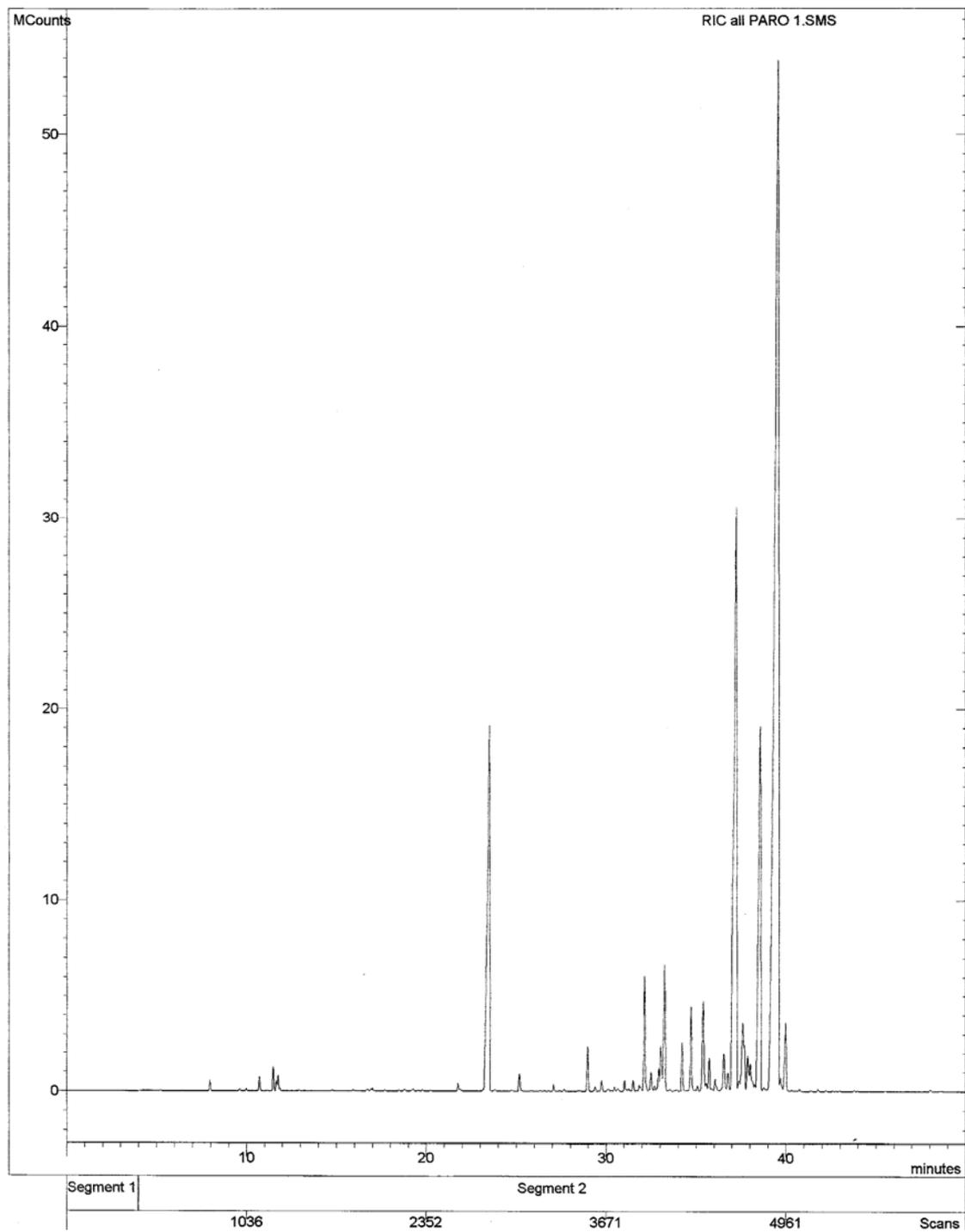
ANEXO 1 – Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>C. sylvestris</i>	35
ANEXO 2 - Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>P. umbellata</i>	36
ANEXO 3 - Cromatograma do óleo essencial das raízes de <i>Acanthospermum australe</i>	37

UNIVATES

ANEXO 1 – Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Casearia sylvestris*.



ANEXO 2 - Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Pothomorphe umbellata*.



ANEXO 3 - Cromatograma do óleo essencial das raízes de *Acanthospermum australe*.

Chromatogram Plot

File: c:\... \user\meus documentos\cg-ms-\ms 09 2007\oleo carape raiz.sms

Sample: oleo carape raiz

Operator:

Scan Range: 1 - 8386 Time Range: 0.00 - 67.66 min.

Date: 03/09/2007 14:33

