



MARIA LUISA TEIXEIRA

**ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Lippia origanoides*
Kunth. E *Mentha spicata* L.: COMPOSIÇÃO
QUÍMICA, POTENCIALIDADES BIOLÓGICAS E
CARACTERIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS
SECRETORAS**

LAVRAS-MG

2013

MARIA LUISA TEIXEIRA

ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Lippia origanoides* Kunth. E *Mentha spicata* L.:
COMPOSIÇÃO QUÍMICA, POTENCIALIDADES BIOLÓGICAS E
CARACTERIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS SECRETORAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Produtos Naturais, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Maria das Graças Cardoso

Coorientadores

Dr. Jair Campos Moraes

Dr. Wilson Roberto Maluf

LAVRAS-MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Teixeira, Maria Luisa.

Óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e *Mentha spicata*
L. : composição química, potencialidades biológicas e
caracterização das estruturas secretoras / Maria Luisa Teixeira. –
Lavras : UFLA, 2013.

126 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Maria das Graças Cardoso.

Bibliografia.

1. Produtos naturais. 2. Atividade antioxidante. 3. Atividade
inseticida. 4. Atividade acaricida. 5. Tricomas glandulares. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 547.71

MARIA LUISA TEIXEIRA

ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Lippia origanoides* Kunth. E *Mentha spicata* L.:
COMPOSIÇÃO QUÍMICA, POTENCIALIDADES BIOLÓGICAS E
CARACTERIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS SECRETORAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Produtos Naturais, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 25 de fevereiro de 2013.

Dra. Ana Cristina da Silva Figueiredo	FCUL
Dr. Luiz Gustavo de Lima Guimarães	UFSJ
Dra. Josefina Aparecida de Souza	UFLA

Dra. Maria das Graças Cardoso
Orientadora

LAVRAS-MG

2013

A Deus, por me dar coragem e determinação para traçar mais este caminho em busca de meus ideais.

Ao meu filho, Pedro Teixeira Nagata, por compreender minha ausência em momentos que precisava de apoio.

Ao meu marido, Adriano Kaneo Nagata, pelo amor, incentivo e confiança.

À minha mãe, Ângela Maria Rezende Teixeira, que me apoiou na concretização deste nosso sonho e ao meu pai, Edison Leocádio Teixeira, que, apesar da saudade e distância (mas sempre em meu coração), me iluminou em mais esta vitória.

Aos meus irmãos, Bruna e Zezé, que foram também fundamentais em mais esta etapa vencida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar energia, saúde, perseverança e força para a realização deste projeto, que há muito tempo era um sonho.

À minha família, pelo incentivo, amor e confiança.

À professora Maria das Graças Cardoso, pela oportunidade e orientação. Sua compreensão, dedicação e amizade foram fundamentais.

Aos professores Jair Campos Moraes e Wilson Roberto Maluf, pela co-orientação, atenção e pela disponibilização do laboratório e de materiais.

Às professoras Adelir Aparecida Saczk e Josefina Aparecida de Souza, que na ausência da minha orientadora, sempre estavam dispostas a me auxiliar.

Aos amigos do Laboratório de Química Orgânica – Óleos Essenciais, Juliana Valério, Lucilene, Cíntia, Christiane, Rafaela, Marcos e, em especial, à Juliana Andrade e Milene, pela grande ajuda na condução dos experimentos; sem a ajuda de vocês não teria sido possível.

Aos amigos do Laboratório de Análise de Qualidade de Aguardente, Wilder, João, Leonardo, Karen, Bruna, Felipe e Cleuza, pela amizade e companheirismo.

Ao pessoal do Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural, em nome de seu coordenador, Prof. Eduardo Alves.

Ao Prof. Evaristo Mauro de Castro, pela concessão do Laboratório de Anatomia Vegetal para a realização dos testes histoquímicos, em especial à Marinês Ferreira Pires, pela ajuda na condução do experimento.

À Profa. Ana Cristina da Silva Figueiredo, do Departamento de Biologia Vegetal da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, pelo auxílio na realização das análises cromatográficas.

À Profa. Mariana Esteves Mansanares, do Departamento de Biologia, pela grande ajuda na identificação botânica das espécies vegetais.

Aos professores de Departamento de Química, que foram fundamentais para o meu desenvolvimento intelectual.

À colega do Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, Franscinely Aparecida de Assis, pela grande ajuda na condução do ensaio inseticida.

Ao colega do Departamento de Agricultura, Celso Mattes Oliveira, por auxiliar na realização do teste acaricida.

Às funcionárias do Departamento de Química, Shirley, Ana, Bruna e Lidiany, pela atenção e ajuda em qualquer momento.

À funcionária do Departamento de Fitopatologia, Eloísa, pela atenção e valiosa ajuda.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Química, pela oportunidade concedida.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Devido aos detrimientos causados pelos compostos sintéticos utilizados como antioxidantes e no controle de pragas agrícolas, objetivou-se com este trabalho caracterizar quimicamente os óleos essenciais extraídos das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L., avaliar as atividades antioxidante, inseticida e acaricida desses óleos, e analisar morfológicamente e histologicamente as estruturas secretoras de óleos essenciais dessas plantas. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação, utilizando-se um aparelho de Clevenger modificado, sendo, posteriormente, analisados por CGL e CGL/EM. A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos de oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico e sequestro de radicais DPPH, nas concentrações dos óleos essenciais, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A atividade inseticida foi analisada pela repelência e duração de repelência, bem como pela não preferência com chance e sem chance de escolha, frente ao pulgão *Myzus persicae* Sulzer. A atividade acaricida dos óleos essenciais foi verificada frente ao ácaro *Tetranychus ludeni* Zacher. A caracterização das estruturas secretoras foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e pelos testes histoquímicos com os reagentes de cloreto férrico, Nadi e Sudan IV. As análises cromatográficas do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. revelaram o carvacrol (39,80%), *p*-cimeno (19,59%), γ -terpineno (18,08%) e timol (4,53%) como constituintes majoritários; e do óleo essencial de *Mentha spicata* L., a piperitona (81,18%), piperitenona (14,57%) e limoneno (1,47%). Os óleos essenciais das espécies utilizadas neste estudo apresentaram porcentagens de atividade antioxidante dose-dependente nas concentrações testadas; no entanto, somente para o óleo essencial de *L. origanoides* Kunth. foi possível determinar os valores de CI_{50} , de 334,7 e 477,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$, pelos métodos do sistema β -caroteno/ácido linoleico e sequestro de radicais DPPH, respectivamente. Os óleos essenciais mostraram-se potenciais agentes no manejo integrado do ácaro *Tetranychus ludeni* Zacher. e do pulgão *Myzus persicae* Sulzer. A caracterização das superfícies foliares das plantas em estudo demonstrou que os óleos essenciais estavam armazenados em tricomas glandulares.

Palavras-chave: Produtos naturais. Atividade antioxidante. Atividade inseticida. Atividade acaricida. Tricomas glandulares.

ABSTRACT

Because synthetic compounds used as antioxidants and agricultural pest control have been shown to exert various harmful effects, this study sought to chemically characterize essential oils extracted from fresh leaves of *Lippia origanoides* Kunth. and *Mentha spicata* L., evaluate the antioxidant, insecticide and acaricide activities of these oils, and analyze morphological and histological structures that secrete the essential oils of these plants. The essential oils were extracted by hydrodistillation using a modified Clevenger apparatus, and analyzed by GLC and GLC/MS. The antioxidant activity was determined by the oxidation of the β -carotene/linoleic acid system and by the sequestration of the DPPH radical employing oil concentrations of the essential oils, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300 and 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Insecticidal activity was determined by measuring the repellency and duration of repellency, as well as the lack of preference of the *Myzus persicae* Sulzer aphid when given or not given a choice. The acaricidal activity of essential oils was checked against the *Tetranychus ludeni* Zacher mite. The characterization of secretory structures was performed by scanning electron microscopy (SEM) and by histochemical tests with the Nadi and Sudan IV ferric chloride reagents. The chromatographic analysis of the essential oil from *Lippia origanoides* Kunth. revealed carvacrol (39.80%), *p*-cymene (19.59%), γ -terpinene (18.08%), and thymol (4.53%) as the major constituents. The principal constituents in the essential oil from *Mentha spicata* L. were piperitone (81.18%), piperitenone (14.57%), and limonene (1.47%). The essential oils from the species used in this study showed dose-dependent antioxidant activity at the concentrations tested. However, it was possible to determine IC_{50} values only for the essential oil from *L. origanoides* Kunth using the β -carotene-linoleic acid and sequestration of the DPPH radical methods: 334.7 and 477.4 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. The essential oils were shown to possess potential for use in an integrated management program of the mite *Tetranychus ludeni* Zacher and of the aphid *Myzus persicae* Sulzer. The characterization of the leaf surfaces of plants under study, showed that essential oils were storage in glandular trichomes.

Keywords: Natural products. Antioxidant activity. Insecticidal activity. Acaricide activity. Glandular trichomes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Principais rotas de biossíntese de metabólitos secundários.....	20
Figura 2	Representação básica de um fenilpropanoide.....	25
Figura 3	Biossíntese de fenilpropanoides.....	26
Figura 4	Estrutura química do isopreno.....	27
Figura 5	Biossíntese de terpenos via mevalonato.....	28
Figura 6	Biossíntese de terpenos via DXPS.....	29
Figura 7	Aspecto geral da espécie <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	31
Figura 8	Aspecto geral da espécie <i>Mentha spicata</i> L.....	33
Figura 9	Aspecto geral do afídeo <i>Myzus persicae</i> Sulzer.....	43
Figura 10	Aspecto geral do ácaro-vermelho <i>Tetranychus ludeni</i> Zacher.....	48
Figura 11	Aspecto geral do processo de extração de óleo essencial.....	50
Figura 12	Aspecto geral do processo para determinação de umidade de material vegetal.....	51
Figura 13	Aspecto geral do procedimento para determinar a atividade acaricida.....	61
Figura 14	Estruturas químicas dos compostos majoritários presentes no óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	67
Figura 15	Estruturas químicas dos compostos majoritários presentes no óleo essencial de <i>Mentha spicata</i> L.....	69
Figura 16	Provável mecanismo que explica a atividade antioxidante de compostos fenólicos (carvacrol).....	72
Figura 17	Eletromicrografia de varredura da superfície foliar de	

	<i>Lippia origanoides</i> Kunth. A- Tricomas glandulares capitados (TGC), tricomas glandulares peltados (TGP) e tricomas tectores (TT) na superfície abaxial. B- Tricomas glandulares capitados (TGC), tricomas glandulares peltados (TGP) e tricomas tectores (TT) na superfície adaxial.....	94
Figura 18	Seções transversais das folhas de <i>Lippia origanoides</i> Kunth. A- Reação com reagente cloreto férrico (detecção de compostos fenólicos), Barra= 50 µm. B- Reação com reagente Sudan IV (detecção de lipídeos), Barra= 20 µm. C- Reação com reagente Nadi (detecção de terpenos), Barra= 50 µm.....	95
Figura 19	Eletromicrografia de varredura da superfície foliar de <i>Mentha spicata</i> L. A- Tricomas glandulares capitados (TGC), tricomas glandulares peltados (TGP) e tricomas tectores (TT) na superfície abaxial. B- Tricomas glandulares capitados (TGC), tricomas glandulares peltados (TGP) e tricomas tectores (TT) na superfície adaxial.....	97
Figura 20	Seções transversais das folhas de <i>Mentha spicata</i> L. A- Reação com reagente cloreto férrico (detecção de compostos fenólicos), Barra= 50 µm. B- Reação com reagente Sudan IV (detecção de lipídeos), Barra= 50 µm. C- Reação com reagente Nadi (detecção de terpenos), Barra= 50 µm.....	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Rendimentos dos óleos essenciais de <i>Lippia origanoides</i> Kunth. e <i>Mentha spicata</i> L.....	64
Tabela 2	Composição química do óleo essencial das folhas de <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	66
Tabela 3	Composição química do óleo essencial das folhas de <i>Mentha spicata</i> L.....	68
Tabela 4	Valores da porcentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais pelo método β -caroteno/ácido linoleico.....	71
Tabela 5	Valores da porcentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais pelo método de sequestro de radicais DPPH.....	73
Tabela 6	Valores de CI_{50} para a porcentagem de atividade antioxidante do óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i> Kunth...	74
Tabela 7	Valores médios do número de adultos vivos no teste de repelência para concentração dos óleos essenciais.....	75
Tabela 8	Valores médios do número de adultos vivos no teste de repelência para época de aplicação.....	76
Tabela 9	Valores médios do número de ninfas no teste de repelência para concentração dos óleos essenciais.....	77
Tabela 10	Valores médios do número de ninfas no teste de repelência para época de aplicação.....	77
Tabela 11	Valores médios do número de adultos vivos no teste de duração de repelência para concentração dos óleos essenciais.....	78
Tabela 12	Valores médios do número de adultos vivos no teste de duração de repelência para intervalo de tempo.....	79
Tabela 13	Valores médios do número de ninfas no teste de duração de	

	repelência para concentração dos óleos essenciais.....	80
Tabela 14	Valores médios do número de ninfas no teste de duração de repelência para intervalo de tempo.....	80
Tabela 15	Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/com chance de escolha para concentração do óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	81
Tabela 16	Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/com chance de escolha para intervalo de tempo para o óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	81
Tabela 17	Valores médios do número de ninfas no teste de não preferência/com chance de escolha para concentração do óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	82
Tabela 18	Valores médios do número de ninfas no teste de não preferência/com chance de escolha para intervalo de tempo para o óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i> Kunth.....	83
Tabela 19	Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/com chance de escolha para concentração e intervalo de tempo do óleo essencial de <i>Mentha spicata</i> L.....	83
Tabela 20	Valores médios do número de ninfas no teste de não preferência/com chance de escolha para concentração e intervalo de tempo do óleo essencial de <i>Mentha spicata</i> L....	84
Tabela 21	Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/sem chance de escolha para concentração dos óleos essenciais.....	86
Tabela 22	Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/sem chance de escolha para intervalo de tempo.....	86
Tabela 23	Valores médios do número de ninfas no teste de não	

	preferência/sem chance de escolha para concentração dos óleos essenciais.....	87
Tabela 24	Valores médios do número de ninfas no teste de não preferência/sem chance de escolha para intervalo de tempo.....	88
Tabela 25	Valores médios das distâncias percorridas (mm) pelos ácaros em relação as concentração dos óleos essenciais.....	89
Tabela 26	Valores médios das distâncias percorridas (mm) pelos ácaros para tempo de exposição.....	90

LISTA DE SIGLAS

ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico ácido)
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
BLU	Base Livre de Umidade
CGL	Cromatografia Gás-Líquido
CGL/EM	Cromatografia Gás-Líquido/ Espectrometria de Massas
CI ₅₀	Concentração Inibitória de 50%
CL ₅₀	Concentração Letal de 50%
CL ₉₀	Concentração Letal de 50%
CL _{99,9}	Concentração Letal de 99,9%
COMTRADE	Commodity Trad Database
DIC	Detector de Ionização em Chamas
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DBC	Delineamento em Blocos Casualizados
DL ₅₀	Dose Letal de 50%
DMAPP	Dimetilalil difosfato
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DXPS	1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato
ER ₅₀	Efeito repelente de 50%
ESAL	Escola Superior Agrícola de Lavras
FAL	Fenilalanina amonialiase
FPP	Farnesil difosfato
GPP	Geranil difosfato
GGPP	Geranilgeranil difosfato
ISSO	Organização Internacional de Normalização
LME	Laboratório de Microscopia Eletrônica
MEP	Metileritrol fosfato
MEP	2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PLRV	<i>Potato Leafroll Virus</i>
PVY	<i>Potato Virus Y</i>
UFLA	Universidade Federal de Lavras

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1	Produtos de origem vegetal.....	19
2.2	Metabólitos secundários.....	19
2.3	Óleos essenciais.....	21
2.3.1	Estruturas secretoras de óleos essenciais.....	29
2.4	<i>Lippia organoides</i> Kunth.....	30
2.5	<i>Mentha spicata</i> L.....	32
2.6	Atividade antioxidante dos óleos essenciais.....	34
2.7	Atividade inseticida dos óleos essenciais.....	38
2.7.1	<i>Myzus persicae</i> Sulzer.....	42
2.8	Atividade acaricida dos óleos essenciais.....	44
2.8.1	<i>Tetranychus ludeni</i> Zacher.....	47
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	49
3.1	Obtenção do material vegetal.....	49
3.2	Extração dos óleos essenciais.....	49
3.2.1	Determinação da umidade.....	51
3.3	Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais.....	51
3.3.1	Análises qualitativas.....	52
3.3.2	Análises quantitativas.....	52
3.4	Atividade antioxidante.....	53
3.4.1	Sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	53
3.4.2	Sequestro de radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazila).....	54
3.4.3	Análise estatística.....	55
3.5	Atividade inseticida.....	55
3.5.1	Repelência dos óleos essenciais de <i>Lippia organoides</i> Kunth. e de <i>Mentha spicata</i> L. sobre o pulgão <i>Myzus persicae</i> Sulzer..	56
3.5.2	Duração de repelência dos óleos essenciais de <i>Lippia organoides</i> Kunth. e de <i>Mentha spicata</i> L. sobre o pulgão <i>Myzus persicae</i> Sulzer.....	57
3.5.3	Análise estatística.....	57
3.5.4	Não preferência de <i>Myzus persicae</i> Sulzer em tomateiros tratados com óleos essenciais de <i>Lippia organoides</i> Kunth. e de <i>Mentha spicata</i> L. - Teste com chance de escolha.....	58
3.5.5	Não preferência de <i>Myzus persicae</i> Sulzer em tomateiros tratados com óleos essenciais de <i>Lippia organoides</i> Kunth. e de <i>Mentha spicata</i> L. - Teste sem chance de escolha.....	58

3.5.6	Análise estatística.....	59
3.6	Atividade acaricida.....	60
3.6.1	Análise estatística.....	61
3.7	Análises morfológicas.....	61
3.8	Análises histoquímicas.....	62
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
4.1	Rendimento.....	64
4.2	Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais.....	65
4.3	Atividade antioxidante.....	70
4.4	Atividade inseticida.....	75
4.5	Atividade acaricida.....	89
4.6	Estruturas secretoras dos óleos essenciais.....	93
5	CONCLUSÃO.....	100
	REFERÊNCIAS.....	101
	APÊNDICE.....	112

1 INTRODUÇÃO

Há muitos anos o homem vem utilizando as plantas com finalidade biotecnológica, uma vez que possuem compostos naturais capazes de atuar contra predadores, micro-organismos patogênicos, insetos e animais herbívoros, além de atuarem como agentes preventivos de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas.

Considerando os possíveis problemas que podem ser acometidos pelo consumo de antioxidantes sintéticos, como o BHT (butilhidroxitolueno) e o BHA (butilhidroxianisol), pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais possibilitarão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com o propósito de diminuir sua utilização nos alimentos.

Por muitos anos na agricultura, uma diversidade de compostos químicos sintéticos, tem sido empregados no controle de pragas e de doenças de plantas. Todavia, a utilização desses compostos vem sendo limitada por seus efeitos carcinogênicos, teratogênicos, toxicidade por resíduo e poluição ambiental (VIEGAS JUNIOR, 2003).

Devido aos fatores prejudiciais da utilização dos compostos sintéticos como agentes antioxidantes e inseticidas, tem se aumentado a busca por maneiras de controle alternativas, principalmente por àqueles que podem proporcionar uma alimentação saudável ao homem, serem sustentavelmente seguros e que ofereçam compostos biodegradáveis.

Dentre estes compostos naturais, destacam-se os óleos essenciais, metabólitos secundários produzidos pelas plantas ocorrendo em estruturas secretoras especializadas dependendo da família, sendo também caracterizados por serem misturas complexas de compostos orgânicos, cuja utilização vem crescendo, conquistando o mercado e a preferência dos consumidores.

O Brasil dispõe de uma variedade excepcional em sua flora; com isso, torna-se viável o estudo das propriedades funcionais das espécies que a compõem. A *Lippia origanoides* Kunth. (Verbenaceae), um arbusto aromático, nativo da América Central e do norte da América do Sul, é utilizado na medicina tradicional, para o tratamento de doenças gastrointestinais e respiratórias (VICUÑA; STASHENKO; FUENTES, 2010). A *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) é uma planta rizomatosa rastejante, aromática e com folhas mais estreitas. São utilizadas popularmente como agentes aromatizantes de chás, como calmante, e o seu óleo essencial é empregado na indústria farmacêutica e de cosméticos (LAWRENCE, 2006).

Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho caracterizar quimicamente os óleos essenciais das folhas de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L., avaliar as atividades antioxidante, inseticida e acaricida, desses óleos essenciais e analisar morfológicamente e histologicamente as estruturas secretoras de óleos essenciais dessas plantas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produtos de origem vegetal

Os produtos vegetais têm sido estudados e utilizados desde o início da história, para aliviar doenças, como fonte de alimentos, habitação, utilidades domésticas, materiais de vestuário, defesa e ataque, e na produção de meios de transporte. Nos dias atuais, contudo, eles representam uma das alternativas entre as diferentes fontes de insumos necessários, tendo como principal vantagem o fato de serem de fonte renovável e, em grande parte, controlável pelo ser humano.

2.2 Metabólitos secundários

Metabolismo é o conjunto das transformações das moléculas orgânicas que ocorrem nas células vivas, catalisadas por enzimas específicas, tendo como função suprir o organismo de energia, renovar suas moléculas e garantir a continuidade do estado organizado. A presença dessas enzimas propicia uma determinada direção a essas transformações, caracterizando as rotas metabólicas. Os compostos químicos formados e degradados são chamados de metabólitos e são divididos em dois grandes grupos, os metabólitos primários, como a celulose, lignina, proteínas e outras substâncias, que realizam as principais funções vitais e fazem parte da atividade celular dos seres vivos. O outro grupo originado dos metabólitos primários são os metabólitos secundários, geralmente produzidos em pequenas quantidades, possuindo características químicas muito variadas, e sendo responsáveis por funções pouco definidas, o que não os torna menos importantes (DEWICK, 2008).

Por muito tempo, os metabólitos secundários foram considerados apenas como produtos finais das reações, sem utilidade biológica; porém, com o surgimento de estudos relacionados com as plantas, tem-se descoberto sobre a função dessas substâncias, como a utilidade para o desenvolvimento fisiológico das plantas e seus papéis como intercessores das interações entre as plantas e outros organismos (SIMÕES et al., 2007).

Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas originam-se do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato, conforme demonstrado na Figura 1. Podem ser divididos em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados.

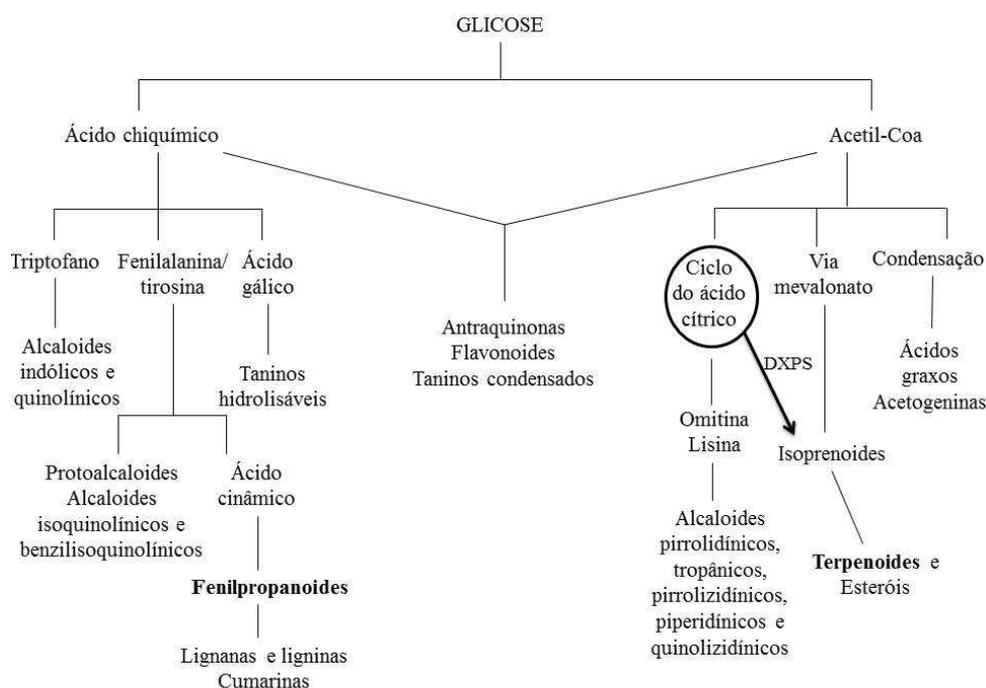


Figura 1 Principais rotas de biossíntese dos metabólitos secundários
Fonte: Simões et al. (2007)

Os principais grupos de compostos entre os metabólitos secundários com maior atividade biológica, de acordo com Simões et al. (2007) são os alcaloides, os flavonoides, as cumarinas, os taninos, as quinonas e os óleos essenciais.

2.3 Óleos essenciais

O Brasil é um dos países que se destaca na produção de óleos essenciais, ao lado da Índia, China e Indonésia, sendo esses considerados os maiores na produção mundial. A produção de óleos essenciais provenientes de frutos cítricos oriundos de subprodutos da indústria de sucos é responsável pela posição atual do Brasil. No passado, o Brasil se destacou como exportador dos óleos essenciais de pau-rosa, sassafrás e menta; contudo, nos últimos tempos, passou à condição de importador. Os maiores consumidores de óleos essenciais no mundo, segundo a base de dados americana COMTRADE (Commodity Trade Statistics Database), são os Estados Unidos (40%), a União Europeia (30%) e o Japão (7%), ao lado do Reino Unido, Alemanha, Suíça, Irlanda, China, Cingapura e Espanha. O mercado mundial de óleos essenciais circunda em torno de US\$ 15 milhões/ano, apresentando um aumento aproximado de 11% ao ano (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Os óleos essenciais eram estudados pelo aroma e por propiciar sabor aos alimentos e bebidas; nos últimos anos, esses tem sido estudados por serem produtos naturais, sendo aceitos pelos consumidores, pelo possível fato de não conferirem riscos à saúde e por apresentarem propriedades multifuncionais. Entre essas propriedades, destacam-se a antibacteriana, a antifúngica, a inseticida, a antiparasitária e a sequestradora de radicais (SACCHETTI et al., 2005).

Os óleos essenciais podem ser extraídos por diversos métodos, utilizando-se solvente orgânico, CO₂ supercrítico, forno de micro-ondas, prensagem de pericarpos, arraste de vapor, hidrodestilação, microextração em fase sólida, enfloração, entre outros. O método de extração pode variar de acordo com o uso do óleo. O produto extraído pode variar em quantidade, qualidade e composição, de acordo com o clima, solo, órgão da planta, idade e estágio do ciclo vegetativo (ANGIONI et al., 2006).

No método de extração com solvente orgânico, utilizam-se preferencialmente solventes apolares. Entretanto, a utilização não é recomendada, pois o óleo essencial obtido pode ser impuro, devido à presença de ácidos graxos e outros compostos que são solúveis no solvente. Dessa forma, os produtos obtidos possuem baixo valor comercial (SIMÕES et al., 2007).

Na técnica de extração por micro-ondas, o material vegetal fica imerso em um solvente transparente às micro-ondas e com o aquecimento da água contida no vegetal, as estruturas celulares rompem-se, ficando o óleo essencial dissolvido no meio com o solvente. Quando se compara essa técnica com as demais, têm-se como vantagem a rapidez; entretanto, as micro-ondas são capazes de modificar os isômeros *cis* e *trans*, por causarem rotação molecular (BANDONI; CZEPAK, 2008).

No método de prensagem ou expressão, os pericarpos dos frutos cítricos são prensados e separa-se a camada que contém o óleo essencial. Posteriormente, esse óleo é separado da emulsão formada com a água, por meio de decantação, centrifugação ou destilação fracionada. No entanto, durante esse processo pode ocorrer a extração de furanocumarinas, as quais, em contato com a pele, causam queimadura pelo fato de reagirem com o DNA, RNA, proteínas e lipídios. Assim, os óleos essenciais obtidos por prensagem dos pericarpos dos frutos cítricos não podem ser utilizados na indústria de cosméticos (SIMÕES et al., 2007).

A extração de óleos essenciais por fluidos supercríticos destaca-se dentre os processos de extração, pela qualidade dos produtos obtidos e por não causar danos ambientais quando se utiliza dióxido de carbono (CO₂) no estado supercrítico como solvente, uma vez que não são gerados resíduos químicos (SIMÕES et al., 2007).

Outra técnica analítica importante para extração de óleos é a microextração em fase sólida. Nessa técnica, os componentes voláteis são depositados em uma agulha com material adsorvente e, em seguida, essa é inserida em um cromatógrafo gasoso, tendo como principal vantagem a pequena quantidade de material necessário para a análise. Além disso, não requer o uso de solventes, e possui o diferencial de poder realizar análises não destrutivas do material vegetal (SIMÕES et al., 2007).

O método de enfloração (*enfleurage*) é considerado um dos métodos mais antigos; contudo, atualmente é utilizado por algumas indústrias de perfume para a extração de óleos essenciais de alto valor comercial. Nesse método as pétalas das flores são depositadas sobre uma camada de gordura e substituídas por novas, até que a gordura fique saturada. Posteriormente, a gordura é separada com álcool e a fração alcoólica é destilada para a obtenção do produto de interesse (SIMÕES et al., 2007).

A técnica de destilação por arraste com vapor d'água se baseia na destilação da mistura de dois líquidos imiscíveis com a vaporização a temperaturas inferiores, as de ebulição de cada um dos constituintes voláteis (BANDONI; CZEPAK, 2008).

O método de hidrodestilação é o mais empregado e se baseia no poder de volatilização dos constituintes dos vegetais. Para a obtenção dos óleos essenciais, o material vegetal fica em contato com a água e, juntos, são levados à ebulição. O equipamento que se utiliza nesse tipo de extração em escala laboratorial é o aparelho de Clevenger modificado (SIMÕES et al., 2007).

Os óleos essenciais são também denominados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências, por serem de aspecto oleoso à temperatura ambiente. Eles são geralmente incolores ou ligeiramente amarelados, com exceção dos óleos essenciais que apresentem alto teor de azulenos, como o de camomila e mil-folhas, que apresentam uma cor azulada (SIMÕES et al., 2007). De acordo com Bandoni e Czepak (2008), esses são misturas complexas de substâncias orgânicas lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas que apresentam como propriedades físico-químicas a alta volatilidade, a instabilidade na presença de luz, de oxigênio, de substâncias oxidantes e redutoras, em meios com pH extremos, ou na presença de traços de metais que podem catalisar reações de decomposição e transformação.

A composição dos óleos essenciais está constantemente em transformação, variando de acordo com a origem botânica, o quimiotipo, fatores da natureza e o procedimento de cultivo das plantas e de obtenção. Varia também conforme a origem geográfica, secagem, época de colheita e tipo de adubação (BANDONI; CZEPAK, 2008).

Os óleos essenciais podem apresentar constituição química muito variada, incluindo hidrocarbonetos terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e até compostos com enxofre. Na mistura, esses compostos se apresentam em diferentes concentrações; contudo, geralmente um, dois ou três desses são encontrados em maiores proporções, sendo denominados de majoritários. Apesar da complexidade da composição, os constituintes dos óleos essenciais são derivados de fenilpropanoides ou de terpenoides, sendo esses últimos predominantes na forma de monoterpenos e sesquiterpenos (BANDONI; CZEPAK, 2008; SIMÕES et al., 2007).

Os fenilpropanoides são caracterizados por apresentarem um anel benzênico com uma cadeia lateral composta por três carbonos, com uma dupla

ligação e podem apresentar uma hidroxila na posição *para*, também podem apresentar outros grupos funcionais oxigenados como grupo funcional F(igura 2) (TAIZ; ZEIGER, 2004).

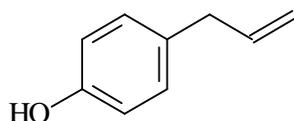


Figura 2 Representação básica de um fenilpropanoide

Os fenilpropanoides se formam a partir do ácido chiquímico pela ação da enzima fenilalanina amonialiase (FAL). Dois metabólitos da glicose, o fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fosfato, se condensam e depois de várias reações formam a fenilalanina e a tirosina, que perdem uma molécula de amônia, resultando na formação dos ácidos cinâmico e *p*-cumárico (Figura 3). Finalmente, por meio de reações de redução, oxidação e ciclização, os ácidos cinâmico e *p*-cumárico dão origem aos fenilpropanoides (SIMÕES et al., 2007).

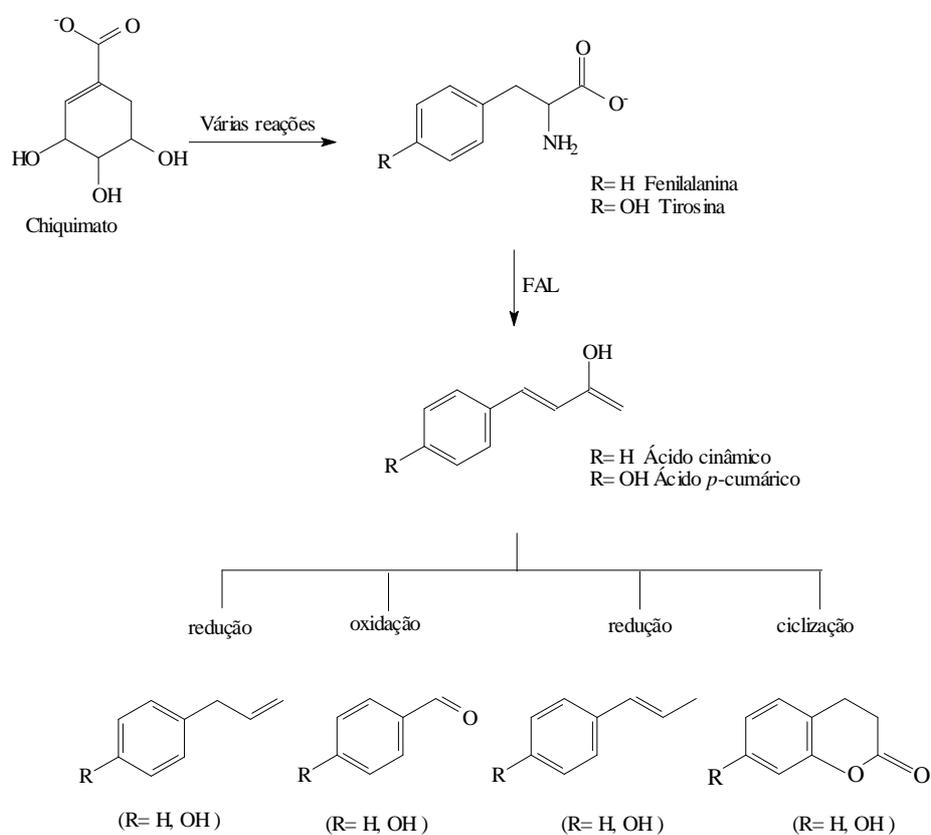


Figura 3 Biossíntese de fenilpropanoides

Fonte: Simões et al. (2007)

Os terpenoides representam uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo o termo empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética é o IPP (isopentenil difosfato) e o DMAPP (dimetilalil difosfato), que originam todos os compostos terpênicos (Figura 4) (SIMÕES et al., 2007).

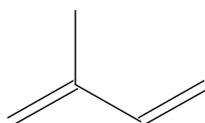


Figura 4 Estrutura química do isopreno (unidade básica)

Os terpenos são classificados pelo número de unidades isoprênicas que possuem. Aqueles com 10 átomos de carbonos, que têm duas unidades isoprênicas, são classificados como monoterpenos; os de 15 átomos de carbono (três unidades C_5) são os sesquiterpenos e aqueles de 20 átomos de carbono (quatro unidades C_5) são os diterpenos (SIMÕES et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2004).

Para Simões et al. (2007), os terpenos são biossintetizados a partir de metabólitos primários, partindo-se de duas rotas distintas. Pela rota do ácido mevalônico (Figura 5), três moléculas de acetil-Coa são ligadas por uma série de reações para formar o ácido mevalônico; esse intermediário é pirofosforilado e desidratado para produzir o isopentenil difosfato (IPP). Esse é a unidade básica de formação dos terpenos.

Outra rota de biossíntese de terpenos é a 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS) (Figura 6). Por essa via, o piruvato e o gliceraldeído-3-fosfato formam o 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato que, posteriormente, dá origem ao 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP). Em seguida, são formados por sucessivas reações o isopentenil difosfato (IPP) e o dimetilalil difosfato (DMAPP), que dão origem aos terpenos (DEWICK, 2008).

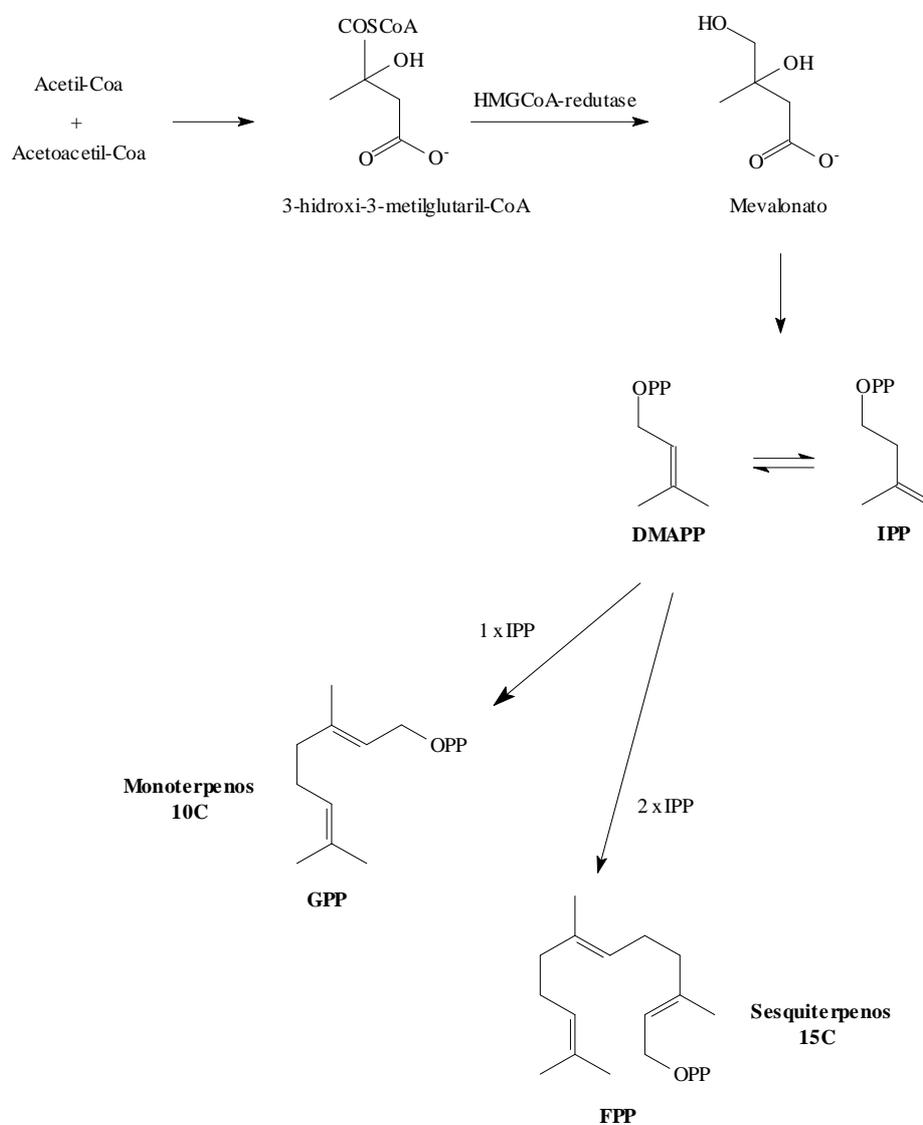


Figura 5 Biossíntese de terpenos via mevalonato
 Fonte: Adaptada de Simões et al. (2007)

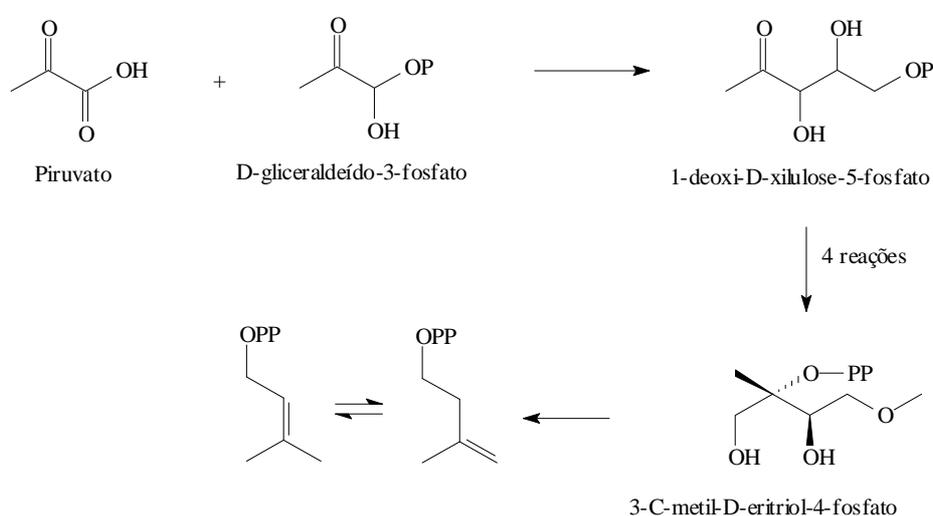


Figura 6 Biossíntese de terpenos via DXPS (DEWICK, 2008)

2.3.1 Estruturas secretoras dos óleos essenciais

Os óleos essenciais podem estar acumulados em certos órgãos nas plantas, como flores (laranjeira e bergamoteira), folhas (capim-limão, eucalipto e louro), cascas dos caules (canelas), madeira (sândalo e pau-rosa), raízes, rizomas (cúrcuma e gengibre), frutos (anis-estrelado, funcho e erva-doce) e sementes (noz-moscada). Embora todos os órgãos de uma planta podem acumular óleos essenciais, sua composição pode variar segundo a localização (SIMÕES et al., 2007). Para esse autor, a síntese e o acúmulo dos óleos essenciais nas plantas variam de acordo com a família botânica à qual pertence, podendo ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como pêlos ou tricomas glandulares (Lamiaceae e Verbenaceae), células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae e Poaceae), canais oleíferos (Apiaceae) ou em bolsas lisígenas e esquizolisígenas (Pinaceae e Rutaceae).

Essas estruturas, segundo Svoboda e Greenaway (2003), são divididas em estruturas de secreção internas (cavidades e os canais secretores) e externas (tricomas glandulares). Os tricomas são estruturas que podem ocorrer nas folhas, caules e flores. Segundo Combrick et al. (2007), existem três tipos de tricomas, o glandular capitado (com pedúnculo alongado e cabeça secretora), o glandular peltado (sem pedúnculo ou com pedúnculo reduzido) e o tricoma não glandular (constituído de uma célula basal em nível com a epiderme e de quatro a cinco células intermediárias esclerenquimatosas e uma longa célula apical). Bisio et al. (1999) classificam os tricomas glandulares capitados em tricomas do tipo I (que possuem cabeças unicelulares arredondadas e cabeças bicelulares) e em tricomas do tipo II (que apresentam cabeças unicelulares em forma de pera).

As cavidades secretoras podem ser desenvolvidas de dois modos, pela separação de uma das outras células parenquimáticas, resultando em espaços intercelulares, ou pela modificação de uma célula, formando uma cavidade com epiderme. Canais secretores são formados pela dilatação de espaços intercelulares (meatos) que se intercomunicam no meristema, chamados de canais esquizógenos e estão localizados nas camadas mais internas do córtex (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

2.4 *Lippia origanoides* Kunth.

O gênero *Lippia* (família Verbenaceae) compreende cerca de 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores, com ampla disseminação na América do Sul, América Central e na África tropical (TERBLANCHÉ; KORNELIUS, 1996; PASCUAL et al., 2001). Os principais centros de diversidade específica do gênero *Lippia* se encontram no México e Brasil, onde o maior número de espécies estão na Cadeia do Espinhaço, localizada nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás (OLIVEIRA et al., 2007). Esse gênero

se destaca por seu aspecto chamativo no período da floração e por seu aroma forte, geralmente agradável.

No nordeste brasileiro, as espécies de *Lippia* são usadas na medicina popular para o tratamento de resfriados, gripes, bronquites e tosse. Na maioria das vezes, as partes empregadas são as folhas e flores na forma de infusão ou decocto administradas oralmente ou através de emplastos (MESA et al., 2009).

Lippia origanoides Kunth. é um arbusto aromático ou pequena árvore de até 3 m de altura, nativa da América Central e do norte da América do Sul (Figura 7). Conhecida popularmente por alecrim-d'Angola, é muito utilizada como tempero e na medicina tradicional, para o tratamento de doenças gastrointestinais e respiratórias (VICUÑA; STASHENKO; FUENTES, 2010).



Figura 7 Aspecto geral da espécie *Lippia origanoides* Kunth

Os principais constituintes voláteis frequentemente encontrados nos óleos essenciais de diferentes espécies de *Lippia* são o timol, carvacrol, 1,8-cineol, limoneno, *p*-cimeno, linalol, α -pineno e β -cariofileno. Muitas das espécies de *Lippia* apresentam variações na composição química de seu óleo essencial, como no caso da *L. origanoides* que, com três quimiotipos registrados na Amazônia brasileira e colombiana, apresentaram como constituintes majoritários o *p*-cimeno, α -e γ -terpineno, timol, carvacrol, β -cariofileno, α -felandreno e δ -careno (OLIVEIRA et al., 2007; STASHENKO et al., 2008)

2.5 *Mentha spicata* L.

O gênero *Mentha* é bem conhecido para fins medicinais e pelo seu aroma. Inclui cerca de 25 a 30 espécies que crescem em regiões temperadas da Ásia, Austrália e África do Sul. Essas espécies apresentam considerável diversidade na composição química de seus óleos essenciais. Pode ser cultivada em clima tropical e até mesmo em clima temperado. A Índia é responsável por 80% do total da demanda mundial, com uma produção de 16000 toneladas de óleo essencial de espécies de *Mentha* (KHANUJA, 2007). Embora oito espécies desse gênero sejam cultivadas na Índia, apenas três espécies (*Mentha spicata* L., *Mentha arvensis* L. e *Mentha piperita* L.) são aprovadas pela Organização Internacional de Normalização (ISO) para o mercado internacional (DASHORA; DASHORA; LAKHAWAT, 2006).

Mentha spicata L. é uma planta conhecida popularmente como “hortelã-pimenta” ou “hortelã-de-folha-fina”, rizomatosa rastejante e aromática, pertencente à família Lamiaceae (Figura 8). Diferencia-se das demais pelas folhas mais estreitas e pela essência fortemente aromática que é exalada por elas. Apresenta flores arroxeadas, com posterior formação de sementes. O óleo

essencial de *M. spicata* L. é rico em carvona e apresenta um odor característico de hortelã (JIROVETZ et al., 2002).



Figura 8 Aspecto geral da espécie *Mentha spicata* L.

As folhas de *M. spicata* L. são utilizadas popularmente como agentes aromatizantes de chás, ao passo que os especialistas em ervas utilizam toda a planta como calmante (YONIS; BESHIR, 2004). As plantas frescas e secas, e seus óleos essenciais são também largamente empregados em alimentos, cosméticos, confeitos de mascar, pasta de dentes e em indústrias farmacêuticas (LAWRENCE, 2006). Pesquisando o óleo essencial de *M. spicata* L., Franzios et al. (1997) observaram que ele apresentava atividade inseticida e mutagênica. Investigações posteriores indicaram que vários extratos vegetais de espécies de *Mentha* exibiram efeito larvicida contra *Culex pipiens*, *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, *Aedes stephensi* e *Aedes tessellatus* (TRABOUSLI et al. 2002; AMER; MEHLHORN 2006; CETIN et al. 2006).

2.6 Atividade antioxidante dos óleos essenciais

Muitas evidências têm demonstrado que a alimentação à base de frutas, vegetais e grãos podem reduzir o risco de inúmeras doenças. Vários autores têm correlacionado os efeitos benéficos desses alimentos pela presença de substâncias sequestradoras de radicais livres (STIEVEN; MOREIRA; SILVA, 2009).

De acordo com Prado, Aragão e Fett (2009), os radicais livres são intermediários de reação que possuem um elétron isolado, sendo espécies instáveis e extremamente reativas, podendo desencadear reações de oxidação nos ácidos graxos presentes nas membranas biológicas, causando doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Nos ácidos graxos presentes em alimentos, podem ocorrer o ranço, o desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis e a perda do valor nutricional. Esse processo pode ser retardado pela modificação das condições ambientais ou pela utilização de substâncias antioxidantes.

Os antioxidantes são definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo ser enzimáticos ou não enzimáticos, tais como α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ascorbato (vitamina C), compostos fenólicos (flavonoides) e ácidos fenólicos. O consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos presentes na maior parte das plantas, tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas com o estresse oxidativo (MORAIS et al., 2009).

O estresse oxidativo é gerado quando os radicais livres são produzidos em excesso, e como consequência, atacam e danificam qualquer molécula encontrada no organismo, levando a alterações teciduais responsáveis por diversas patologias, incluindo o câncer, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas (SOARES; ANDREAZZA; SALVADOR, 2005).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes, na prevenção de doenças crônico-degenerativas. Dentre esses métodos, destacam-se o sistema β -caroteno/ácido linoleico e o método de sequestro de radicais livres DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). O método do β -caroteno/ácido linoleico avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico, o qual está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoleico. Igualmente ao sistema β -caroteno/ácido linoleico, o método de radicais livres está baseado no descoramento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH• de cor violeta quando da adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio. O primeiro método determina a atividade de uma amostra ou composto de proteger um substrato lipídico da oxidação, ao passo que o método de inibição de radicais DPPH• baseia-se na transferência de prótons de um composto antioxidante para o radical (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

Em muitos estudos, têm-se demonstrado o potencial dos óleos essenciais como agentes antioxidantes de origem vegetal. Moraes et al. (2006), avaliando a atividade antioxidante dos óleos essenciais de três espécies de *Croton* do nordeste do Brasil, *C. zenhtneri*, *C. nepetaefolius* e *C. argyrophylloides*, coletados em dois horários distintos (06:00 e 13:00 h), nas concentrações de 100, 500 e 1000 ppm, demonstraram o potencial desses óleos essenciais como agentes antioxidantes pelo método do ácido tiobarbitúrico. Segundo os autores, os óleos essenciais apresentaram atividades antioxidantes que diminuíram significativamente na concentração de 100 em relação à de 1000 ppm, com exceção do óleo do *C. nepetaefolius*, que mostrou atividade semelhante nas três concentrações. Ainda de acordo com os mesmos autores, na concentração de

100 ppm, os óleos de *C. zehntneri* e *C. argyrophyloides* nos dois horários de colheita foram mais ativos que os padrões (α -tocoferol e butilhidroxitolueno-BHT). O constituinte majoritário para o óleo de *C. zehntneri* foi o *E*-anetol, para o de *C. nepetaefolius* foi o metil-eugenol e para o de *C. argyrophyloides*, α -pineno.

Buscando avaliar a atividade antioxidante dos óleos essenciais extraídos de *Baccharis uncinella* e *B. dracunculifolia* utilizando a metodologia do sistema β -caroteno/ácido linoleico, Ferronato et al. (2006) observaram que os dois óleos avaliados inibiram a formação de espécies reativas de oxigênio em até 65,66% para *B. dracunculifolia* e 52,18% para *B. uncinella* quando na presença de 50 μ L de ambos os óleos. Com esses resultados, os autores concluíram que os óleos essenciais extraídos dessas duas espécies de *Baccharis* possuem considerável atividade antioxidante.

Cansian et al. (2010) avaliaram a atividade antioxidante do óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera fujita*) cujo constituinte majoritário foi o linalol, utilizando o método de sequestro de radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazila). Observaram que o percentual antioxidante do óleo essencial em estudo aumentava proporcionalmente com a concentração, atingindo o valor máximo de 97,49% de atividade antioxidante para a concentração de 50000 μ g mL⁻¹.

Lopes-Lutz et al. (2008), estudando a atividade antioxidante pelo método β -caroteno/ácido linoleico e pelo método de sequestro de radicais DPPH, de óleos essenciais de sete espécies selvagens de *Artemisia* do oeste do Canadá (*A. absinthium* L., *A. biennis* Willd., *A. cana* Pursh, *A. dracunculus* L., *A. frigida* Willd., *A. longifolia* Nutt. e *A. ludoviciana* Nutt.), mostraram que os óleos essenciais analisados apresentaram uma fraca atividade antioxidante, quando comparado com o óleo essencial de orégano e o padrão sintético BHT, usados como controles positivos. Na caracterização química dos óleos

essenciais, os constituintes majoritários para o óleo de *Artemisia cana*, *A. frigida*, *A. longifolia* e *A. ludoviciana* foram o 1,8-cineol (21,5-27,6%) e a cânfora (15,9-37,3%). Para o óleo de *A. absinthium*, os majoritários foram o mirceno (10,8%), *trans*-tujona (10,1%) e acetato de *trans*-sabinila (26,4%); e para o de *A. biennis*, foram o (*Z*)- β -ocimeno (34,7%) e o (*E*)- β -farneseno (40,0%). O óleo de *A. dracunculus* apresentou como compostos majoritários o metil-chavicol (16,2%) e o metil-eugenol (35,8%).

Recentemente, estudos realizados por Rather et al. (2012) sobre a atividade antioxidante do óleo essencial de *Juglans regia* L., que possui como constituintes majoritários o α -pineno, β -pineno, limoneno, cariofileno e germacreno-D, pelos métodos de sequestro de radicais DPPH e de radical hidroxil, obtiveram uma atividade antioxidante elevada, quando comparada com os padrões de referência (ácido ascórbico e BHT), com CI_{50} de 34,5 e 56,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$, para os métodos, respectivamente.

Ye, Dai e Hu (2013), investigando a atividade antioxidante do óleo essencial de *Allium cepa* L. pelos métodos ABTS, sequestro de radicais DPPH e metal quelante, encontraram moderada atividade antioxidante do óleo pelos três métodos testados. Para o primeiro método, obtiveram um CI_{50} de 0,67 mg mL^{-1} , para o segundo, de 0,63 mg mL^{-1} e, para o terceiro, de 0,51 mg mL^{-1} . Com os resultados obtidos, os autores sugeriram que óleo essencial de *A. cepa* pode ser uma nova fonte como agente antioxidante natural aplicado em sistemas alimentares.

Alguns óleos essenciais apresentam elevada atividade antioxidante por determinado método, mas em outro, podem apresentar uma atividade reduzida, ou até não apresentar. Zhang et al. (2006), avaliando a capacidade antioxidante do óleo essencial de *Petroselinum crispum* por três ensaios *in vitro*, capacidade de oxidação do β -caroteno, método do DPPH, e um terceiro, que avalia a capacidade de quelar íons Fe^{+2} , observaram que o óleo essencial apresentou

atividade antioxidante na inibição da oxidação do β -caroteno e na inativação de radicais livres DPPH, mas não apresentou atividade considerada como quelante dos íons Fe^{+2} , sendo os compostos majoritários desse óleo essencial a miristicina, apiol, α -pineno, β -pineno e 1-alil-2,3,4,5-tetrametoxi-benzeno.

Guimarães et al. (2011) estudaram a atividade antioxidante do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e de seu constituinte majoritário, o citral, empregando os métodos de redução do radical livre DPPH e o sistema β -caroteno/ácido linoleico. Observaram que o óleo essencial e o citral apresentaram pequena atividade antioxidante perante a primeira metodologia. Segundo os autores, isso pode ser justificado devido à não facilidade de doação de um hidrogênio por parte desses compostos, para neutralizar o radical DPPH. Perante a metodologia que emprega o sistema β -caroteno/ácido linoleico, esses compostos apresentaram atividades antioxidantes crescentes de acordo com as concentrações utilizadas, chegando a atividades de 46,45% e de 38,00% na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ para o óleo essencial e seu constituinte majoritário (citral), respectivamente.

2.7 Atividade inseticida dos óleos essenciais

A crescente preocupação da sociedade em relação aos efeitos colaterais dos agrotóxicos, como a toxicidade para os aplicadores, poluição ambiental e a presença de resíduos em alimentos, tem incentivado os pesquisadores a desenvolverem estudos com novas táticas de controle alternativo de pragas, como o uso de inseticidas naturais. Os compostos naturais ativos estão sendo considerados uma alternativa importante para a gestão sustentável de insetos-praga na agricultura, por serem biodegradáveis e potencialmente adequados para serem utilizados em programas de manejo integrado (RATTAN, 2010).

A substituição dos agrotóxicos sintéticos pelos produtos naturais, geralmente atóxicos para mamíferos e específicos em sua ação, está recebendo uma atenção considerável. Nesse contexto, incluem-se principalmente os compostos derivados do metabolismo secundário, em que são formadas várias substâncias que atuam na defesa do vegetal contra micro-organismos (RATTAN, 2010). Isso tem inspirando o desenvolvimento de modernas pesquisas em que se utilizam os óleos essenciais, com o intuito de desenvolver novos produtos que possam ser utilizados sem ocasionar danos ao homem e ao meio ambiente.

A atividade dos óleos essenciais sobre os insetos pode ocorrer de diversas formas, causando mortalidade, deformações em diferentes estágios de desenvolvimento, como também repelência e deterrência, sendo a atividade repelente o modo de ação mais comum dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários (ISMAN, 2006).

A maioria dos monoterpenos são citotóxicos para os tecidos das plantas e animais, provocando uma redução do número de complexos de Golgi e de mitocôndria, prejudicando a respiração celular, a fotossíntese, e diminuindo a permeabilidade da membrana celular. A dosagem dos óleos essenciais necessários para controlar insetos-praga e seus mecanismos de ação são potencialmente importantes para a segurança dos seres humanos e de outros vertebrados (TRIPATHI et al., 2009).

Como potenciais inseticidas, pouco se sabe sobre as ações fisiológicas dos óleos essenciais sobre os insetos. De acordo com Kostyukovsky et al. (2002), os óleos essenciais e seus constituintes podem causar sintomas que sugerem um modo de ação neurotóxica. Com isso, eles podem agir sobre o sistema nervoso dos insetos, afetando o transporte de íons e a liberação de acetilcolinaesterase. Podem também interromper o funcionamento da octopamina, que tem um largo espectro de funções biológicas em insetos, agindo

como um neurotransmissor, neuro-hormônio e neuromodulador, o que resultaria em ruptura total do sistema nervoso nos insetos. Portanto, o sistema octopaminérgico dos insetos representa um alvo para o seu controle. E ainda, a falta de receptores de octopamina em vertebrados provavelmente contribuiria para a seletividade dos óleos essenciais como inseticidas (TRIPATHI et al., 2009).

Em várias pesquisas tem-se comprovado a atividade inseticida dos óleos essenciais. Lima et al. (2008), estudando o efeito dos óleos essenciais dos frutos de anis-estrelado (*Illicium verum* L.) e das folhas de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o comportamento do pulgão-da-couve *Brevicoryne brassicae* (L.), observaram que os óleos essenciais apresentaram efeito repelente/deterrente sobre o inseto nas concentrações de 0,5% e 0,1%, respectivamente. Quimicamente, o óleo essencial de *C. citratus* apresentou como constituintes majoritários o mirceno (14,6%), citral (78,3%); e o óleo essencial de *I. verum*, os compostos (E)-anetol (90,4%), limoneno (2,7%) e metil-chavicol (1,3%).

Estudos realizados por Lima et al. (2009), por meio dos quais verificou-se a atividade inseticida do óleo essencial de pimenta-longa (*Piper hispidinervum*) sobre a lagarta-do-cartucho-do-milho (*Spodoptera frugiperda*), obtiveram o safrol (82%) como o constituinte majoritário e encontraram uma CL_{50} de 16,2 mg mL⁻¹ para lagartas de 1º ínstar e uma CL_{50} 9,4 mg mL⁻¹ para lagartas do 3º ínstar, após o intervalo de tempo de 96 horas, sendo também observados sintomas de neurotoxicidade.

Lima et al. (2010), avaliando o óleo essencial de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) sobre a lagarta-do-cartucho-do-milho, verificaram que o componente majoritário do óleo essencial foi o precoceno (87,0%) e que, pelo teste de ingestão, o óleo essencial apresentou atividade inseticida para a lagarta, causando mortalidade acima de 70%, a partir da concentração de 0,5%.

Avaliando o efeito inseticida do óleo essencial de *Artimisia vestida* sobre o gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais* Motsch.), Chu, Liu e Liu (2010) encontraram elevada atividade inseticida para esse óleo, com toxicidade fumigante (CL_{50} de $13,42 \text{ mg L ar}^{-1}$) e toxicidade por contato (DL_{50} de $50,62 \text{ mg adulto}^{-1}$). Segundo os autores, o óleo essencial apresentou como constituintes majoritários o grandisol (40,29%), 1,8-cineol (14,88%) e cânfora (11,37%).

Lima et al. (2011) avaliaram a atividade inseticida do óleo essencial de *Lippia sidoides* sobre o inseto *Tenebrio molitor*, que ataca grãos armazenados. O óleo essencial, bem como seus compostos majoritários, carvacrol, 1,8-cineol e timol, apresentaram elevada atividade inseticida sobre o inseto, e concluíram que esses compostos podem ser usados como uma nova ferramenta na Gestão Integrada de Pragas.

A atividade inseticida dos óleos essenciais de *Piper aduncum* L., *P. callosum* Ruiz & Pav., *P. divaricatum* G. Mey., *P. marginatum* Jacq. var. *anisatum* e *P. marginatum* Jacq. var. *marginatum* sobre operárias adultas de *Solenopsis saevissima*, foi avaliada por Souto, Harada e Maia (2011). De acordo com esses autores, o óleo com melhor potencial inseticida foi o *P. aduncum*, com mortalidade média de 100% (1000 ppm), 85% (500 ppm) e 55% (100 ppm) em 24 horas; e de 100% (1000 e 500 ppm) e 76,6% (100 ppm) em 48 horas. Segundo os autores, a ação inseticida de *P. aduncum* pode ser conferida pela presença marcante de dilapiol (50-97%) como constituinte majoritário na composição química do óleo essencial.

Zhu e Tian (2011) pesquisaram a atividade inseticida do óleo essencial de *Blumea densiflora*, tendo como composto majoritário o borneol, verificando sua atividade inseticida sobre larvas do mosquito vetor da malária, *Anopheles anthropophagus*, variando a concentração e o tempo de exposição. Esses pesquisadores obtiveram resultados dose-dependentes às concentrações utilizadas. A considerável atividade inseticida mostrou que 100% de mortalidade

das larvas ocorreu dentro de 6 h a 150 ppm, 10 h a 100 ppm, 30 h a 50 ppm e a 25 ppm. Os valores de CL₅₀ foi de 22,32 ppm (após 12 h) e 10,55 ppm (após 24 h), e a CL₉₀ foi de 54,04 ppm (após 12 h) e 33,56 ppm (depois 24 h). Os resultados revelaram que o óleo essencial de *B. densiflora* pode ser utilizado como um potencial larvicida contra o mosquito vetor da malária, *A. anthropophagus*.

O óleo essencial de *Mentha spicata* Linn. e seus constituintes majoritários, carvona (48,60%), *cis*-carveol (21,30%) e limoneno (11,30%), foi estudado por Govindarajan et al. (2012) sobre três espécies de mosquitos (*Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* e *Anopheles stephensi*). O óleo essencial mostrou um efeito tóxico significativo contra as larvas, com CL₅₀ de 62,62; 56,08 e 49,71 ppm; e com CL₉₀ de 118,70; 110,28 e 100,99 ppm, respectivamente. Os constituintes majoritários também foram testados separadamente e apresentaram valores de CL₅₀ para *A. stephensi* de 19,33; 28,50 e 8,83 ppm, para *A. aegypti* de 23,69; 32,88 e 12,01 ppm e para *C. quinquefasciatus* de 25,47; 35,20 e 14,07 ppm, respectivamente. Com os resultados obtidos, os autores concluíram que o óleo essencial pode ser eficaz agente larvicida no controle de *C. quinquefasciatus*, *A. aegypti* e *A. stephensi*.

2.7.1 *Myzus persicae* Sulzer

O pulgão-verde-do-pêssego, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) (Figura 9), é considerado uma das espécies mais prejudiciais sob o ponto de vista agrícola, pois além dos prejuízos diretos resultantes da sucção contínua de seiva, causa prejuízo indireto devido à transmissão de vírus, sendo o vetor de mais de 120 doenças de plantas (BLACKMAN; EASTOP, 1984). Entre as culturas mais afetadas por esse afídeo (pulgão), estão o picão, a mostarda branca, a couve, o repolho, o nabo, o pimentão, o algodão, o alface, a ervilha-

cheirosa, o tomate, o tabaco, o pêsego, a berinjela, a batata-inglesa, o espinafre, o brócolis, o rabanete e a acelga. No Brasil, sua ocorrência já foi descrita nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (SOUZA-SILVA; PACHECO; ILHARCO, 1995).



Figura 9 Aspecto geral do afídeo *Myzus persicae* Sulzer

Os afídeos possuem vida curta e habitam ambientes efêmeros (DIXON; WELLINGS, 1982). Apresentam reprodução partenogenética, formando clones. Esse tipo de reprodução é considerado uma adaptação à instabilidade ou perturbação ambiental. Cada genótipo pode ser representado por vários fenótipos na população, incluindo indivíduos ápteros (sem asas) ou alados (com asas). Formas aladas são produzidas em condições adversas, podendo dispersar-se para colonizar novos hospedeiros.

Na cultura da batata, o pulgão *Myzus persicae* é considerado como o mais importante vetor de *Potato Leafroll Virus* (PLRV), pertencente ao gênero

Luteovirus e *Potato Virus Y* (PVY) do gênero *Potivirus*. Além da transmissão dos vírus, altas populações desse afídeo podem ocasionar perdas de até 54% da massa seca de plantas de batata, decorrentes da ação toxicogênica da saliva, a qual ocasiona necroses, principalmente ao longo das nervuras (ILHARCO, 1992).

O uso de inseticidas sistêmicos para o controle de afídeos é uma prática bastante comum. Thomazini, Vendramim e Lopes (2000) relataram que aplicações sucessivas de inseticidas aumentam a probabilidade de desenvolvimento de populações da praga resistentes a eles, provocando o aparecimento de novas pragas ou a ressurgência de outras, além de favorecerem a ocorrência de desequilíbrios naturais, afetando predadores e parasitóides.

2.8 Atividade acaricida dos óleos essenciais

A contenção de ácaro na cultura do tomateiro, assim como o controle das principais pragas, são realizados pela aplicação de produtos agroquímicos, os quais podem não apresentar a eficiência esperada e também serem responsáveis por danos relacionados à contaminação ambiental, à resistência do ácaro ao princípio ativo e à erradicação de inimigos naturais. O controle biológico é uma alternativa viável, tanto pela utilização de predadores quanto pelo uso de entomopatógenos. Outra possibilidade de controle que está sendo muito estudada é a utilização de produtos naturais, como os óleos essenciais (LIMA et al., 2008), que podem agir sobre os ácaros por diversas formas, causando mortalidade, deformações em diferentes estágios de desenvolvimento, e também repelência e deterrência (ISMAN, 2006).

Os óleos essenciais das folhas e frutos de *Protium heptaphyllum* coletados em Tamandaré-Pernambuco foram testados de acordo com sua toxicidade e efeito repelente contra o ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*) por

Pontes et al. (2007). O óleo essencial dos frutos foi mais eficiente contra o ácaro, cujos compostos majoritários foram β -pineno (45,59%) e α -pineno (17,18%); comparado com o das folhas, no qual os constituintes majoritários foram cubenol (57,43%) e α -epimurolol (26,09%). Segundo os autores, ambos os óleos revelaram propriedades de mortalidade e deterrência de oviposição na maior concentração (10 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar) e apenas o óleo essencial dos frutos induziu repelência ao *T. urticae*.

A atividade acaricida dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus* foi testada sobre as larvas não ingurgitadas (larvas não aptas para a oviposição) de *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens* (CLEMENTE et al., 2010). O teste utilizado foi o de empacotamento larval, nas concentrações 6,25%, 12,5%, 25% e 50%, e também um grupo controle (água destilada) e um controle positivo (Deltametrina). Para cada tratamento, aproximadamente 100 larvas desses carrapatos foram colocadas em papel-filtro impregnado com as concentrações utilizadas para o teste; após 24 horas de contato, o número de larvas foi contabilizado. Para o ácaro *A. cajennense*, a eficácia acaricida do óleo essencial de *E. citriodora* foi de 10,8%, 35,3%, 34,5% e 53,1%, ao passo que a eficácia do óleo de *C. nardus* foi de 61,1% (apenas para a concentração de 50% do óleo). Em relação ao ácaro *A. nitens*, a eficácia acaricida do óleo de *E. citriodora* foi de 20,1%, 84,5%, 89,2% e 100,0%, ao passo que a eficácia de *C. nardus* foi de 0,0%, 90,8%, 100,0% e 100,0%. Pelos resultados, infere-se que os óleos essenciais testados são promissores acaricidas, principalmente sobre as larvas de *A. nitens*.

Ghasemi, Moharramipour e Tahmasbi (2011), estudando a atividade dos óleos essenciais de *Thymus kotschyanus*, *Ferula assa-foetida* e *Eucalyptus camaldulensis* contra o ácaro *Varroa destructor*, observaram que o óleo de *T. kotschyanus* apresentou o maior efeito fumigante para o ácaro, com CL_{50} de 1,07 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, seguido de *E. camaldulensis* CL_{50} de 1,74 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar. A menor

atividade acaricida foi atribuída ao óleo essencial de *F. assa-foetida* com CL_{50} 2,46 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar. Os resultados encontrados pelos autores indicam que o óleo essencial de *T. kotschyanus* apresentou potencial valor prático para seu uso como uma alternativa acaricida no controle do *Varroa destructor*.

Ribeiro et al. (2011), verificando a atividade acaricida do óleo essencial de *Calea serrata* e de seu constituinte majoritário, o precoceno II, sobre as larvas de carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, causador de grandes problemas para a indústria de gados, encontraram resultados que indicaram uma interação sinérgica entre os componentes do óleo e o precoceno II. Os valores de CL_{50} e $CL_{99,9}$ observados para o óleo essencial foram de 3,94 e 0,28 $\mu\text{L mL}^{-1}$, respectivamente, e para o precoceno II, foram de 4,25 e 1,78 mg mL^{-1} , respectivamente.

Gazim et al. (2011) avaliaram a atividade acaricida do óleo essencial de *Tetradenia riparia* contra fêmeas ingurgitadas (fêmeas aptas para a oviposição) de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari; Ixodidae). O teste de imersão de adultos (TIA) indicou que a CL_{50} e $CL_{99,9}$ para a mortalidade foram de 0,534 g mL^{-1} e 1,552 g mL^{-1} ; para o número total de ovos, foram de 0,449 g mL^{-1} e 1,76 g mL^{-1} ; e, para a inibição da eclodibilidade, foram de 0,114 g mL^{-1} e 2,462 g mL^{-1} , respectivamente. Pelo teste de empacotamento larval (TEL), a mortalidade das larvas foi observada após 24 horas do tratamento, e com uma mortalidade de 10,6 a 97,6%. Nesse teste, a CL_{50} e a $CL_{99,9}$ foram de 1,222 g mL^{-1} e de 11,382 g mL^{-1} , respectivamente. De acordo com os autores, houve uma correlação positiva entre as concentrações do óleo essencial de *T. riparia* e o controle do carrapato, com a taxa de mortalidade dos carrapatos, dose-dependente. Esses resultados mostraram que o óleo essencial em estudo é um possível promissor como acaricida contra cepas resistentes de *R. (B.) microplus*. Os constituintes majoritários do óleo essencial foram o 14-hidroxi-9-*epi*-cariofileno (18,03%), fenchona (12,87%), *cis*-muurolol-5-en-4- α -ol (11,73%) e ledol (7,18%).

Com o objetivo de investigar os efeitos de toxicidade e de repelência contra o ácaro rajado *Tetranychus urticae*; Motazedian, Ravan e Bandani (2012) estudaram os óleos essenciais de *Mentha longifolia*, *Salvia officinalis* e *Myrtus communis*, encontrando valores para CL₅₀ dos óleos essenciais de 20,08; 60,93; 53,22 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, respectivamente. Esses resultados mostram que o óleo de *M. longifolia* possui a mais alta atividade letal, ao passo que o de *S. officinalis*, a menor. Além disso, os óleos essenciais de *M. longifolia*, *S. officinalis* e de *M. communis* demonstraram possuírem efeito repelente, com ER₅₀ de 147,47; 164,41 e 138,80 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, respectivamente. Com esses dados, infere-se que os óleos essenciais das três plantas podem ser utilizados em programas de gestão de pragas para o controle de *T. urticae*.

2.8.1 *Tetranychus ludeni* Zacher

Os ácaros do gênero *Tetranychus* são artrópodos pertencentes à ordem Acari e à classe Arachnida. São caracterizados pelo pequeno tamanho, ausência de asas e de antenas, presença de quelíceras, possuindo quatro pares de patas na fase adulta, com cabeça, tórax e abdome fundidos e não segmentados (FLECHTMANN; BAKER, 1970). Esse gênero abrange um grande número de espécies, sendo três delas de importância para a cultura do tomateiro; o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch. e os ácaros-vermelhos *Tetranychus ludeni* Zacher (Figura 10) e *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (FLECHTMANN, 1989). Os ácaros-vermelhos apresentam coloração vermelha, no caso das fêmeas e também para a fase de ninfa (FLECHTMANN, 1989).



Figura 10 Aspecto geral do ácaro-vermelho *Tetranychus ludeni* Zacher

As espécies do gênero *Tetranychus* apresentam biologia e hábitos bastante semelhantes, sendo seu desenvolvimento constituído pelas fases ovo, larva, ninfa e adulto. A reprodução ocorre por partenogênese arrenótoca, pela qual os ovos fertilizados dão origem às fêmeas e os não fertilizados, aos machos (BARBOSA; FRANÇA, 1980). O corpo desses artrópodos mede, aproximadamente, 0,45 mm de comprimento e 0,30 mm de largura (MORAES; LEITE FILHO, 1981).

As colônias desenvolvem-se na face inferior das folhas, podendo expandir-se para ambas as superfícies quando o ataque está intenso. O ataque ocorre, preferencialmente, em folhas jovens; mas quando as colônias estão bem estabelecidas, ocorrem em toda a planta. Em condições de alta infestação, ocorre inibição da fotossíntese e, conseqüentemente, a secagem e a queda das folhas. Esse desfolhamento leva a planta a produzir frutos menores e em menor número (FLECHTMANN, 1989).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção do material vegetal

As plantas *Lippia origanoides* Kunth. e *Mentha spicata* L. foram coletadas no período da manhã, no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), na cidade de Lavras-MG, no dia 7 de novembro de 2011. O material foi encaminhado para o Laboratório de Química Orgânica-Óleos Essenciais do Departamento de Química da mesma universidade, sendo as folhas das espécies limpas e separadas quanto ao grau de imperfeições.

Para a identificação botânica das espécies, folhas e ramos férteis, foram coletados no mesmo local (Horto de Plantas Medicinais) e encaminhados para o Herbário ESAL, localizado no Departamento de Biologia da UFLA. A espécie *Lippia origanoides* Kunth. foi identificada pela especialista Dra. Fátima Salimena, da Universidade Federal de Juiz de Fora, e uma excicata encontra-se depositada no Herbário ESAL com o número de registro 26840. A espécie *Mentha spicata* L. foi identificada pela Dra. Mariana Esteves Mansaranes, do Departamento de Biologia da UFLA e uma excicata encontra-se depositada com o número de registro 26839.

3.2 Extração dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram extraídos no Laboratório de Química Orgânica-Óleos Essenciais da Universidade Federal de Lavras, utilizando o método de hidrodestilação com o aparelho de Clevenger modificado (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2000) (Figura 11). Para a extração do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth., foram pesados 250 g de folhas frescas, sendo essas adicionadas em um balão de fundo redondo (5 litros) com 2500 mL

de água destilada. Para a extração do óleo essencial de *Mentha spicata* L. foram pesados 225 g de folhas frescas, adicionando-as em um balão de fundo redondo (5 litros) com 2500 mL de água destilada. Foram realizadas três extrações para cada material vegetal, destilando-se por 2 horas. Transcorrido esse tempo, o óleo essencial foi separado do hidrolato por centrifugação, utilizando uma centrífuga de bancada de cruzeta horizontal (Fanem Baby®I Modelo 206 BL) a 965 x g por 5 min. Com o auxílio de uma micropipeta de Pasteur, o óleo foi retirado, acondicionado em frasco de vidro sob proteção de umidade e luz, e armazenado em baixa temperatura.



Figura 11 Aspecto geral do processo de extração de óleo essencial com o aparelho de Clevenger modificado

3.2.1 Determinação da umidade

Foram adicionados em um balão de fundo redondo (250 mL), 5 g do material vegetal fresco imensos em 80 mL de cicloexano, o qual foi acoplado ao aparelho Dean stark (Figura 12). O aquecimento do balão foi realizado por uma manta aquecedora e, após 2 horas, o volume de água presente no material vegetal foi quantificado (PIMENTEL et al., 2010). O rendimento do óleo essencial foi calculado e expresso em peso de óleo por peso de material com Base Livre de Umidade (BLU).



Figura 12 Aspecto geral do processo para determinação de umidade com o aparelho Dean stark

3.3 Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais

As análises químicas dos óleos essenciais foram realizadas no Departamento de Biologia Vegetal da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, sob orientação da Profa. Dra. Ana Cristina da Silva Figueiredo.

3.3.1 Análises qualitativas

Nas análises de Cromatografia Gás-Líquido/Espectrometria de Massas (CGL/EM), foi utilizado um cromatógrafo Perkin Elmer Autosystem XL, equipado com uma coluna de sílica fundida DB-1(30 m x 0,25 mm d.i., espessura de filme 0,25 μm ; J & W Scientific Inc.), acoplado a um espectrômetro de massas Perkin Elmer Turbomass (versão do software 4.1).

A temperatura do forno foi inicialmente programada em 45°C com variações de 3°C min^{-1} até atingir 175°C; em seguida, em 15°C min^{-1} até 300°C, finalizando com uma isoterma por 10 minutos; temperatura do injetor foi 280°C; gás de arraste hélio, ajustado a uma velocidade linear de 30 cm s^{-1} ; temperatura de transferência de linha de 280°C; temperatura do íon trap, 220 °C; razão de divisão, 1:40; energia de ionização, 70eV; faixa de varredura, 40-300u; tempo de varredura, um segundo.

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi determinada por comparação dos seus índices de retenção, em relação aos dos n-alcenos $\text{C}_8\text{-C}_{25}$ e espectros de massa e por comparação com uma biblioteca de espectros de massa desenvolvida no Laboratório do Centro de Biotecnologia Vegetal, da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (MOURA, 2011).

3.3.2 Análises quantitativas

Os componentes voláteis foram analisados por Cromatografia Gás-Líquido (CGL), em um cromatógrafo Perkin Elmer 8700 equipado com dois detectores de ionização de chama (DIC), um sistema de tratamento de dados e um injetor de vaporização, no qual foram instaladas duas colunas de polaridades diferentes, com as seguintes características:

DB-1 de sílica fundida, de fase imobilizada em metilsilicone (30 m x 0,25 mm d.i., espessura de filme 0,25 μm ; J & W Scientific Inc.);

DB-17HT de fase imobilizada em fenilmetilsilicone (30 m x 0,25 mm d.i., espessura de filme 0,25 μm ; J & W Scientific Inc.).

A temperatura do forno foi inicialmente programada em 45°C com variações de 3°C min^{-1} , até atingir 175°C; em seguida, em 15°C min^{-1} , até 300°C, finalizando com uma isoterma por 10 minutos; temperaturas do injetor e do detector foram 290°C e 280°C, respectivamente; gás de arraste hidrogênio, ajustado a uma velocidade linear de 30 cm s^{-1} . As amostras foram injetadas utilizando a técnica com divisão (split), em uma relação 1:50, com um volume de injeção de solução 0,1 μL óleo/pentano.

A composição percentual dos óleos essenciais foi determinada pela normalização das áreas dos picos sem a utilização de fatores de correção. Os valores apresentados correspondem ao valor médio de duas injeções (MOURA, 2011).

3.4 Atividade antioxidante

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Química Orgânica – Óleos Essenciais, no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras.

3.4.1 Sistema β -caroteno/ácido linoleico

Em um balão de fundo redondo, foram adicionados 60 mg de ácido linoleico, 600 mg de Tween 20, 6 mg de β -caroteno e 30 mL de clorofórmio. Após homogenização, o clorofórmio foi totalmente evaporado utilizando evaporador rotatório (Büchi Rotavapor R114) a 50°C. Após a remoção do

clorofórmio, o resíduo foi dissolvido em 150 mL de água destilada saturada de oxigênio (emulsão A). Alíquotas de 2,5 mL da emulsão A foram transferidas para tubos de ensaio e, em seguida, foram adicionadas 0,2 mL das diluições do óleo essencial em metanol, nas seguintes concentrações, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O branco foi composto pela emulsão A sem a adição de β -caroteno e o controle, por 2,5 mL da emulsão A e 0,2 mL de metanol. As análises para cada mistura reacional foram realizadas com quatro repetições e a absorbância foi medida imediatamente em espectrofotômetro (Shimadzu UV-160 1 PC) a 470 nm. Os tubos foram incubados a 50°C para a reação de oxidação e a leitura da absorbância foi medida novamente após 60 minutos. De acordo com Lopes-Lutz et al. (2008), a porcentagem de atividade antioxidante foi expressa utilizando a equação 1 :

$$\% \text{ AA} = 100 \times [1 - (A_0 - A_t/A_{00} - A_{0t})]$$

Em que:

A_0 : absorbância no início da incubação, com a amostra;

A_t : absorbância depois de 60 minutos, com a amostra;

A_{00} : absorbância no início da incubação, sem a amostra,

A_{0t} : absorbância depois de 60 minutos, sem a amostra.

3.4.2 Método de sequestro de radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazila)

Foi preparada uma solução metanólica de DPPH (solução estoque de DPPH) na concentração de 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os óleos essenciais foram diluídos em metanol nas concentrações 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para a avaliação da atividade antioxidante, foram adicionados em um tubo de ensaio 2,7 mL da solução estoque de DPPH, seguido da adição de 0,3 mL das diluições do óleo essencial. Paralelamente, foram preparados o branco e o controle. O

primeiro contendo 2,7 mL de metanol e 0,3 mL da diluição mais concentrada de óleo essencial, e o segundo, contendo 2,7 mL da solução estoque de DPPH e 0,3 mL de metanol. As análises para cada mistura reacional foram realizadas com quatro repetições e, após 60 minutos (tubos acondicionados na ausência de luz), foram realizadas leituras em espectrofotômetro (Shimadzu UV-160 1 PC) no comprimento de onda de 515 nm (LOPES-LUTZ et al., 2008). A porcentagem de atividade antioxidante foi calculada, empregando a equação 2:

$$\%AA = [1 - (A_{am}/A_{cont})] \times 100$$

Em que:

A_{am} : absorvância da amostra analisada;

A_{cont} : absorvância do controle.

3.4.3 Análise estatística

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado (DIC) com um esquema fatorial de 2 x 8 (óleos essenciais x concentrações), com quatro repetições. O programa estatístico utilizado foi o SISVAR (FERREIRA, 2011).

As análises de variância foram feitas para os experimentos fatoriais, sendo utilizado o Teste de Tukey (5%), para comparar os efeitos médios, e o Teste F, para confirmar a variação nas atividades antioxidantes dos óleos essenciais para cada concentração utilizada. Foram ajustadas equações de regressão para avaliar a atividade antioxidante dos óleos essenciais em cada metodologia para cada concentração.

3.5 Atividade inseticida

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, no Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras.

3.5.1 Repelência dos óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L. sobre o pulgão *Myzus persicae* Sulzer

O plantio dos tomateiros foi realizado utilizando vasos com capacidade de 1 Kg de solo, nos quais foram transplantadas as mudas de tomate, cultivar Santa Clara, obtidas em bandejas de isopor. Os vasos foram mantidos sobre bancadas no interior da casa de vegetação. Os tomateiros receberam os tratamentos ao apresentarem o primeiro par de folhas totalmente expandidas.

A coleta dos pulgões foi realizada no campo. Esses foram levados para o laboratório e criados em gaiolas com plantas de joá-de-capote (*Nicandra physaloides*) em sala climatizada com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas. Para o bioensaio, foram escolhidos pulgões adultos com tamanho uniforme.

Os tratamentos para os óleos essenciais foram: T1- água com Tween 80 antes da infestação, T2- óleo essencial a 0,1% antes da infestação, T3- óleo essencial a 0,5% antes da infestação, T4- água com Tween 80 depois da infestação, T5- óleo essencial a 0,1% depois da infestação e T6- óleo essencial a 0,5% depois da infestação (LIMA et al., 2008).

Os tratamentos T1, T2 e T3 foram pulverizados até o ponto de escorrimento nas plantas com auxílio de um borrifador de plástico com capacidade para 10 mL e, após 24 horas, as plantas foram infestadas com 20 pulgões adultos ápteros (sem asas)/vaso, com um pincel. Já os tratamentos T4, T5 e T6 foram infestados com os afídeos (pulgões) e, após 24 horas, foi realizada a pulverização.

A infestação foi realizada no terço inferior do tomateiro. Decorridos três dias da infestação, foram contados o número de pulgões e o número de ninfas presentes nas hastes dos tomateiros.

3.5.2 Duração de repelência dos óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L. sobre o pulgão *Myzus persicae* Sulzer

O plantio dos tomateiros e o preparo das soluções dos óleos essenciais foram realizados de forma idêntica ao experimento anterior. Todos os tratamentos foram infestados com 20 pulgões adultos ápteros/vaso no terço inferior do tomateiro com o auxílio de um pincel.

Os tratamentos com os óleos essenciais foram: T1- água com Tween 80 pulverizada 1 dia antes da infestação, T2- água com Tween 80 pulverizada 3 dias antes da infestação, T3- água com Tween 80 pulverizada 6 dias antes da infestação, T4- óleo essencial a 0,1% pulverizado 1 dia antes da infestação, T5- óleo essencial a 0,1% pulverizado 3 dias antes da infestação, T6- óleo essencial a 0,1% pulverizado 6 dias antes da infestação, T7- óleo essencial a 0,5% pulverizado 1 dia antes da infestação, T8- óleo essencial a 0,5% pulverizado 3 dias antes da infestação e T9- óleo essencial a 0,5% pulverizado 6 dias antes da infestação (LIMA et al., 2008).

Decorridos três dias das infestações das plantas, foram contados o número de pulgões e o número de ninfas presentes nas hastes dos tomateiros.

3.5.3 Análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com um esquema fatorial de 3 x 2 (concentrações x época de aplicação), com cinco repetições, para o efeito dos óleos essenciais na repelência de pulgões *M. persicae*; e para a duração do efeito de repelência dos óleos, foi um esquema

fatorial de 3 x 3 (concentrações x intervalo de tempo), com cinco repetições. O programa estatístico utilizado foi o SISVAR (FERREIRA, 2011). Os dados foram transformados em $\sqrt{(x+0,5)}$ e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3.5.4 Não preferência de *Myzus persicae* Sulzer em tomateiros tratados com óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L. - Teste com chance de escolha

As folhas do tomateiro foram destacadas e as seções foliares foram recortadas com o auxílio de um cortador de plástico circular de 6 centímetros de diâmetro.

As seções foliares foram borrifadas na parte abaxial até o ponto de escorrimento total com os tratamentos utilizados. Essas foram fixadas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro sobre uma camada de ágar a 1% e cobertas com filme de PVC perfurado com alfinete.

Os tratamentos utilizados neste experimento com os óleos essenciais foram: T1- água com Tween 80, T2- óleo essencial a 0,1%, T3- óleo essencial a 0,5% (LIMA et al., 2008).

Cada placa de Petri continha uma seção foliar de cada um dos três tratamentos, dispostos em círculo, formando uma arena (SILVEIRA; VENDRAMIM; ROSSETO, 1998). No centro de cada placa, foram liberados 15 pulgões adultos ápteros de *M. persicae*. As placas foram mantidas em câmara

climatizada com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas.

As avaliações foram realizadas 24, 48 e 72 horas após a liberação dos pulgões, pela contagem do número de pulgões e do número de ninfas presentes em cada seção foliar.

3.5.5 Não preferência de *Myzus persicae* Sulzer em tomateiros tratados com óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L. - Teste sem chance de escolha

Os tratamentos utilizados neste experimento com os óleos essenciais foram os mesmos utilizados no ensaio com chance de escolha.

Com o auxílio de um cortador de plástico circular, as folhas do tomateiro foram destacadas e seções foliares de 6 cm de diâmetro foram recortadas.

As seções foliares foram borrifadas na parte abaxial até o ponto de escorrimento total com os tratamentos utilizados. Essas foram fixadas em placas de Petri de 10 cm de diâmetro sobre uma camada de ágar a 1% e cobertas com filme de PVC perfurado com alfinete.

Cada placa de Petri continha uma seção foliar de cada tratamento fixada no centro da placa. Foram liberados cinco pulgões adultos ápetros de *M. persicae* (SILVEIRA; VENDRAMIM; ROSSETO, 1998). As placas foram

mantidas em câmara climatizada com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12

horas.

As avaliações foram realizadas 24, 48 e 72 horas da liberação dos afídeos, pela contagem do número de pulgões e do número de ninfas presentes na seção foliar.

3.5.6 Análise estatística

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados (DBC) e inteiramente casualizado (DIC) com dez repetições, para os ensaios com e sem chance de escolha, respectivamente. O programa estatístico utilizado foi o SISVAR (FERREIRA, 2011). Os dados foram transformados em $\sqrt{(x+0,5)}$ e submetidos à análise de variância com parcelas subdivididas no tempo (24, 48, 72 horas), sendo as médias comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3.6 Atividade acaricida

A atividade acaricida dos óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L. sobre o ácaro *Tetranychus ludeni* Zacher. foi desenvolvida seguindo a metodologia de Weston e Snyder (1990), com modificações, sendo realizada na Empresa HortiAgro Sementes Ltda, localizada no município de Ijaci – MG.

Foram utilizados vasos de 2000 mL para os quais foram transplantadas as plantas de tomate cultivar Santa Clara obtidas em bandejas de isopor de 128 células. Paralelamente, os ácaros foram coletados em plantas de jiló e transferidos para plantas da cultivar Santa Clara, mantidas em casa de vegetação para a sua proliferação. O ácaro foi devidamente identificado pela pesquisadora da Epamig/Lavras, Patrícia de Pádua Maracely.

Os folíolos jovens do tomateiro Santa Clara foram destacados e borrifados com os seguintes tratamentos até o escorrimento total: T1- água com Tween 80, T2- óleo essencial a 0,25%, T3- óleo essencial a 0,50%, T4- óleo

essencial a 0,75%, T5- óleo essencial a 1,00% e T6- óleo essencial a 1,50% (PONTES et al., 2007).

Para determinar a atividade acaricida dos óleos essenciais, os folíolos jovens expandidos que receberam os tratamentos foram fixados com uma tachinha a uma placa de isopor. Em tempos de 20, 40 e 60 minutos, contados a partir da liberação de 10 fêmeas do ácaro com o auxílio de um pincel, a distância percorrida por eles foi medida (Figura 13).



Figura 13 Aspecto geral do procedimento para determinar a atividade acaricida

3.6.1 Análise estatística

O delineamento adotado foi o de blocos casualizados (DBC) com quatro repetições utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3.7 Análises morfológicas

As análises morfológicas foram realizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) no Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, utilizando um microscópio eletrônico de varredura LEO EVO 40.

Para as análises, foram utilizadas folhas frescas do quarto nó das plantas, *Lippia origanoides* Kunth. e *Mentha spicata* L., lavadas em água corrente, e cortadas em dimensões aproximadas de 0,5 x 0,5 cm na área da nervura central. O material foi imerso em solução fixativa Karnovisky (KARNOVISKY, 1965), pH 7,2, por um período de 24 horas para a sua fixação. Após a fixação, os materiais foram lavados por três vezes com tampão cacodilato 0,05M, sendo 10 minutos o tempo de cada lavagem. Em seguida, as seções foram transferidas para uma solução de tetróxido de ósmio (OsO_4) 1,0% em água por 1 hora. Posteriormente, o material foi lavado em água destilada por três vezes e desidratado em soluções aquosas de acetona nas concentrações de 25%, 50%, 75%, 90% (uma vez cada um) e 100% (três vezes), permanecendo 10 minutos em cada solução. Decorrido esse tempo, as amostras foram levadas para o aparelho de ponto crítico Balzers CPD 030 para substituição da acetona por CO_2 e complementação da secagem (ROBARDS, 1978). Os espécimes obtidos foram montados em *stubs* com fita de carbono sobre uma película de papel-alumínio e banhados com ouro no evaporador Balzers SCD 050, sendo, em seguida, observados em Microscópio Eletrônico de Varredura.

3.8 Análises histoquímicas

As análises histoquímicas das estruturas secretoras dos óleos essenciais foram realizadas por Microscopia de luz no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Folhas frescas do

quarto nó das plantas, *Lippia origanoides* Kunth. e *Mentha spicata* L., foram seccionadas com micrótomo de mesa transversalmente na região da nervura central (SANTOS et al., 2004).

Para a detecção de compostos fenólicos, os cortes foram colocados em vidros de relógio, adicionando-se 3 gotas de cloreto férrico 10%, 3 gotas de solução aquosa de carbonato de sódio 2% e deixados em repouso por 3 minutos. Posteriormente, foram lavados com água destilada e montados em lâminas semipermanentes com água glicerinizada (JOHANSEN, 1940).

Para a verificação de lipídeos, os cortes foram lavados rapidamente com álcool 70%, colocados em vidros de relógio, adicionaram-se 3 gotas do reagente Sudan IV, que permaneceu em repouso por 15 minutos. Decorrido esse tempo, os cortes foram lavados com água destilada e montados em lâminas semipermanentes com água glicerinizada (GERLACH, 1984).

Para a certificação de terpenos nas estruturas anatômicas das folhas, os cortes foram corados com o reagente de Nadi, ficando imersos por 90 minutos no escuro e, em seguida, lavados em tampão fosfato de sódio 0,01 M por 5 minutos (DAVID; CORDE, 1964). Depois de corados, os cortes foram montados em lâminas semipermanentes com água glicerinizada.

As observações foram feitas no Microscópio de Luz (Leica DMLS) com câmera fotográfica acoplada (Canon PowerShot S40).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento

Os valores dos rendimentos dos óleos essenciais das espécies estudadas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Rendimentos dos óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e *Mentha spicata* L.

Planta	Massa (g)	Umidade (%)	Óleo essencial (% p/p BLU)
<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	250	40,00	0,37
<i>Mentha spicata</i> L.	225	41,00	0,15

*BLU= Base livre de umidade

Pelos dados descritos na Tabela 1, observa-se que os rendimentos dos óleos essenciais foram de 0,37% para as folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. e de 0,15% para as folhas frescas de *Mentha spicata* L.

Oliveira et al. (2007), pesquisando o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth., planta coletada em Oriximiná (Pará-Brasil), encontraram 1,0% de rendimento, valor muito superior ao encontrado neste trabalho.

Sartoratto et al. (2004), analisando plantas aromáticas utilizadas no Brasil, obtiveram um rendimento para o óleo essencial das folhas de *Mentha spicata* L. de 0,32% (p/p), valor que diverge do deste trabalho. No entanto, Deschamps et al. (2008), investigando o rendimento dos óleos essenciais de

espécies de *Mentha* no verão e inverno de Curitiba (Paraná), encontraram que o rendimento médio das cultivares no verão foi aproximadamente o dobro do rendimento observado no inverno; para as folhas *Mentha spicata* L., foi de 0,15% no verão e de 0,10% no inverno; os rendimentos obtidos por Deschamps et al. (2008) corroboram com o deste estudo. Telci et al. (2010), estudando o rendimento da espécie *Mentha spicata* L. cultivada em diferentes localidades da Turquia, encontraram teores do óleo essencial que variaram de 2,41 a 2,74%, valores muito superiores ao deste trabalho. Recentemente, Govindarajan et al. (2012) encontraram um rendimento de 0,65%, para a mesma espécie.

Segundo Burt (2004), essas variações no rendimento dos óleos essenciais para mesma espécie de planta podem ser atribuídas à diferenças de época de colheita, tipo de solo, clima da região, tempo de secagem e umidade relativa do ar no dia da colheita.

4.2 Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais

Foram identificados 19 constituintes no óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. descritos na Tabela 2. Os componentes majoritários foram o carvacrol (39,80%), *p*-cimeno (19,59%), γ -terpineno (18,08%) e timol (4,53%) (Figura 14).

Tabela 2 Composição química do óleo essencial das folhas de *Lippia origanoides* Kunth.

Picos	Compostos	TR (min)	IR _{tab.}	N. Área (%)
1	α -Tujeno	5,633	924	2,31
2	α -Pino	5,791	930	0,67
3	β -Pino	6,945	963	0,13
4	β -Mirceno	7,539	975	3,57
5	α -Felandreno	7,891	995	1,14
6	α -Terpineno	8,325	1002	2,25
7	<i>p</i> -Cimeno	8,428	1003	19,59
8	β -Felandreno	8,729	1005	0,11
9	Limoneno	8,789	1009	0,71
10	γ -Terpineno	9,857	1035	18,08
11	<i>trans</i> -Sabineno hidrato	10,097	1037	0,26
12	Terpinen-4-ol	14,460	1148	0,48
13	Timol	19,666	1275	4,53
14	Carvacrol	20,021	1286	39,80
15	Timol acetato	21,978	1330	0,13
16	Carvacrol acetato	22,683	1348	1,92
17	<i>trans</i> - β -Cariofileno	25,212	1414	3,19
18	α -Humuleno	26,594	1447	0,16
19	Óxido de β -Cariofileno	31,337	1561	0,55

*TR=tempo de retenção; IR_{tab.}=índice de retenção; N. Área=normalização da área

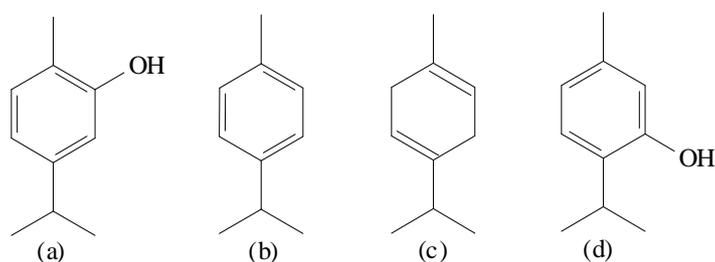


Figura 14 Estruturas químicas dos compostos majoritários presentes no óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. (a) Carvacrol, (b) *p*-Cimeno, (c) γ -Terpineno e (d) Timol

Os resultados corroboram com aqueles encontrados por Santos et al. (2004), que analisando três coleções de *Lippia origanoides* Kunth., encontraram como constituintes majoritários o carvacrol (33,5-42,9%), seguido do *p*-cimeno (11,9-15,8%), γ -terpineno (8,0-10,5%) e timol (5,1-8,4%). Escobar et al. (2010), analisando os óleos essenciais das plantas cultivadas em diferentes lugares da Colômbia, obtiveram o carvacrol como o componente majoritário com 20,5%, seguido do *p*-cimeno (14,8%), timol (13,4%) e γ -terpineno (7,5%). Por outro lado, os resultados encontrados neste trabalho divergem dos de Oliveira et al. (2007), que avaliando a composição química do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth., coletada na cidade de Oriximiná (Pará-Brasil), constataram como constituintes majoritários carvacrol (38,6%), timol (18,5%), *p*-cimeno (10,3%), (E)-cariofileno (5,9%) e γ -terpineno (4,1%).

De acordo com Bandoni e Czepak (2008), as variações na composição química dos óleos essenciais podem ser devidas à época de colheita, origem botânica e geográfica da planta, fatores da natureza, procedimento de cultivo das plantas (tipo de adubação) e de obtenção dos óleos essenciais.

O óleo essencial da espécie *Mentha spicata* L., conhecida por hortelã-pimenta, é constituído principalmente por monoterpenos oxigenados (identificação de 11 constituintes) (Tabela 3), apresentando como compostos majoritários piperitona (81,18%), piperitenona (14,57%) e limoneno (1,47%) (Figura 15).

Tabela 3 Composição química do óleo essencial das folhas de *Mentha spicata* L

Picos	Compostos	TR (min)	IR _{tab.}	N. Área (%)
1	α -Pino	5,849	930	0,51
2	Sabineno	7,001	958	0,50
3	β -Pino	7,074	963	0,50
4	1,8-Cineol	8,760	1005	0,36
5	Limoneno	8,851	1009	1,47
6	<i>cis</i> - β -Ocimeno	9,335	1017	0,17
7	Piperitona	17,34	1211	81,18
8	Piperitenona	20,876	1289	14,57
9	β -Elemeno	24,325	1388	0,29
10	<i>trans</i> - β -Cariofileno	25,305	1414	0,28
11	Germacreno-D	28,431	1474	0,11

*TR=tempo de retenção; IR_{tab.}=índice de retenção; N. Área=normalização da área

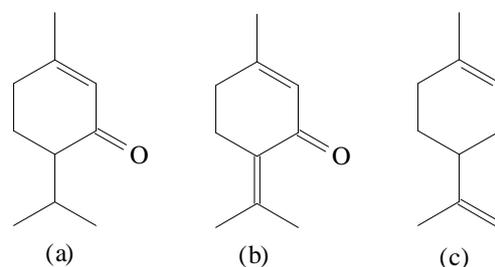


Figura 15 Estruturas químicas dos compostos majoritários presentes no óleo essencial de *Mentha spicata* L. (a) Piperitona, (b) Piperitenona e (c) Limoneno

Sartoratto et al. (2004), analisando o óleo essencial de *Mentha spicata* L., obtiveram que o constituinte majoritário presente foi o óxido de piperitona, na proporção de 94,8%. Chauhan et al. (2009), estudando óleos essenciais de plantas da mesma espécie no período de floração, coletadas em diferentes regiões do Himalaia (nordeste da Índia), constataram a carvona como o constituinte majoritário (49,62-76,65%), seguido do limoneno (9,57-22,31%), 1,8-cineol (1,32- 2,62%) e *trans*-carveol (0,3-1,52%), resultados esses que divergem dos encontrados neste trabalho.

Telci et al. (2010) estudando a espécie *Mentha spicata* L. cultivada em quatro localidades diferentes da Turquia encontraram na composição química dos óleos essenciais os monoterpenos oxigenados, pulegona e piperitona, como os componentes principais nos quatro locais. Contudo, os monoterpenos D-limoneno e β -felandreno foram os constituintes seguintes para a região com clima temperado e com elevada altitude; e os hidrocarbonetos sesquiterpênicos, *trans*-cariofileno e germancreno-D, para as regiões mais quentes. Os resultados encontrados por Telci et al. (2010) não corroboram com os encontrados neste estudo.

Koliopoulos et al. (2010), investigando plantas da família Lamiaceae em diferentes regiões da Grécia, citaram o óxido de piperitenona (35,7%) e 1,8-cineol (14,5%), como os constituintes majoritários do óleo essencial de *Mentha spicata* L., entretanto, estudos recentes realizados por Govindarajan et al. (2012) indicaram a carvona (48,60%), *cis*-carveol (21,30%) e limoneno (11,30%) como os compostos majoritários.

De acordo com Gobbo-Neto e Lopes (2007), a produção dos metabólitos secundários pode ser influenciada por diversos fatores ambientais, como a sazonalidade, índice pluviométrico, ritmo circadiano, altitude, temperatura, ciclo vegetativo da planta, tipo de solo, entre outros. Nesse contexto, nota-se que variações quantitativas e qualitativas existentes na composição química do óleo essencial de *Mentha spicata* L. pode estar influenciada por esses fatores ambientais, uma vez que as plantas foram coletadas em ambientes muito distintos.

4.3 Atividade antioxidante

Os valores da porcentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais em relação às suas concentrações, avaliadas pelo método β -caroteno/ácido linoleico, estão apresentados na Tabela 4. Pode-se verificar um efeito significativo do fator óleo essencial, concentração e também da interação desses fatores sobre as porcentagens de atividade antioxidante apresentadas pelos óleos essenciais diante do método utilizado.

Tabela 4 Valores da porcentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais pelo método β -caroteno/ácido linoleico

Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Óleos essenciais	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
25	9,22 dA	3,34 bB
50	17,68 cdA	4,76 bB
100	23,71 cA	4,95 bB
150	36,88 bA	22,99 aB
200	40,44 bA	24,61 aB
250	43,49 abA	24,80 aB
300	44,28 abA	24,89 aB
500	52,27 aA	25,37 aB

As médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e da mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Foi observado um aumento da atividade antioxidante de acordo com o aumento da concentração, revelando uma relação dose-dependente sobre a atividade antioxidante dos óleos essenciais. Essa relação de dose-dependência sobre a atividade antioxidante e a concentração do óleo essencial foi relatada nos trabalhos de Wang et al. (2008), que avaliaram a atividade antioxidante do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. pelo método β -caroteno/ácido linoleico.

Comparando-se os óleos essenciais presentes nas mesmas concentrações, nota-se que o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. proporcionou uma maior atividade antioxidante, que pode estar relacionada com a presença do composto majoritário do óleo, o carvacrol. Segundo Ruberto e Barata (2000), os

fenóis são antioxidantes eficientes, assim, as moléculas como o timol e carvacrol, segundo os autores, são responsáveis pela elevada atividade antioxidante de muitos óleos essenciais que os contêm (Figura 16).

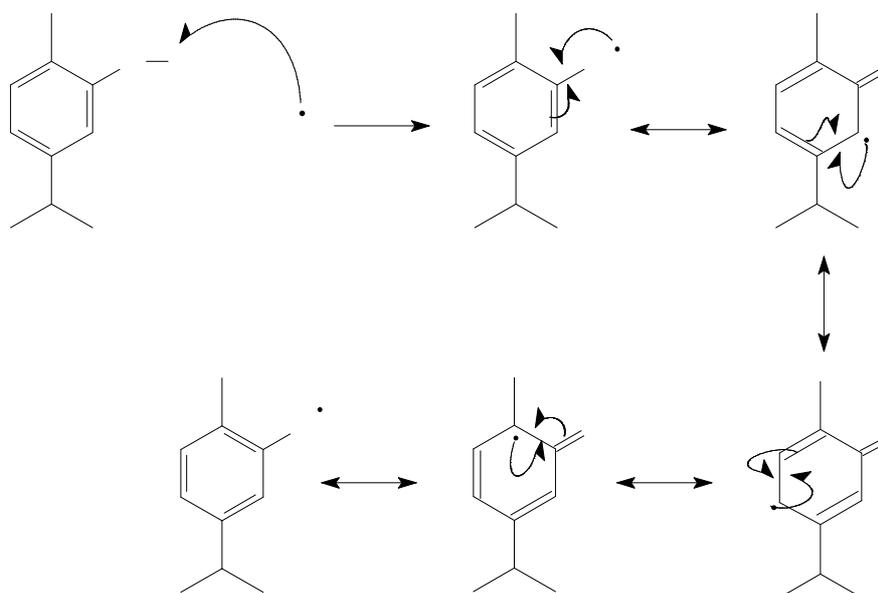


Figura 16 Provável mecanismo que explica a atividade antioxidante de compostos fenólicos (carvacrol)

Pelos dados apresentados na Tabela 5, pode-se observar que a porcentagem de atividade antioxidante também foi dose-dependente às concentrações testadas, e que o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. proporcionou uma maior atividade antioxidante quando comparado com o de *Mentha spicata* L., considerando as mesmas concentrações, para o método de sequestro de radicais DPPH. No entanto, essa atividade foi reduzida, quando comparada com o método β -caroteno/ácido linoleico. Essa menor atividade pode

ser explicada pela baixa solubilidade dos constituintes do óleo essencial no meio reacional do ensaio, geralmente conduzido com os solventes metanol e etanol.

Tabela 5 Valores da porcentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais pelo método de sequestro de radicais DPPH.

Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Óleos essenciais	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
25	4,90 eA	1,81 cA
50	9,86 eA	2,92 cB
100	20,58 dA	3,41 bcB
150	25,18 cdA	4,23 bcB
200	29,41 cA	5,57 bcB
250	38,38 bA	6,80 bcB
300	39,06 bA	8,60 abB
500	50,90 aA	13,81 aB

As médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e da mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth., em que foi possível calcular os valores CI_{50} , as análises de regressão de primeira e segunda ordem foram significativas (Apêndice B); no entanto, os coeficientes de correlação apresentados pelas equações de regressão de segunda ordem demonstraram que ela ajustava-se melhor ao comportamento da relação dose-dependência entre a concentração e a atividade antioxidante, sendo assim, os valores de CI_{50} apresentados nos dois métodos foram calculados por meio das equações de segundo grau e encontram-se apresentados na Tabela 6.

Pelos resultados apresentados na Tabela 6, observa-se que perante os dois métodos utilizados, o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. foi o que apresentou maior atividade antioxidante quando comparado com o de *Mentha spicata* L., não sendo possível determinar os valores de CI_{50} do óleo de *Mentha spicata* L., pois não se encontraram dentro do intervalo determinado de concentrações, ou seja, os valores seriam acima de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 6 Valores de CI_{50} para a porcentagem de atividade antioxidante do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth.

Óleos essenciais	Método Antioxidante	
	β -caroteno/ácido linoleico	DPPH
	$CI_{50} (\mu\text{g mL}^{-1})$	$CI_{50} (\mu\text{g mL}^{-1})$
<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	334,7	477,4

Safaei-Ghomi et al. (2009) relataram que compostos contendo átomos de hidrogênio em carbonos alílicos, benzílicos e fenólicos apresentam melhores atividades pelo método β -caroteno/ácido linoleico, devido à relativa facilidade de abstração do átomo de hidrogênio desses grupos pelos radicais peroxil formados nas circunstâncias do teste. Dessa maneira, pode-se afirmar que a capacidade antioxidante de compostos fenólicos perante esse ensaio se deve às suas capacidades de doação de átomos de hidrogênio, confirmando, desse modo, a elevada capacidade antioxidante do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth., quando comparado com o óleo de *Mentha spicata* L.

Os resultados encontrados pelo método de sequestro de radicais DPPH, que está baseado no descolorimento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH• de cor violeta, quando esse é adicionado a substâncias que

podem ceder um átomo de hidrogênio (como os compostos fenólicos), justifica a atividade antioxidante apresentada pelo óleo essencial de *L. origanoides* Kunth., uma vez que está presente nesse óleo um alto teor de carvacrol.

4.4 Atividade inseticida

De acordo com o teste de repelência dos óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L. em relação às concentrações avaliadas sobre o pulgão *Myzus persicae* Sulzer, pôde-se observar pelos dados descritos na Tabela 7 que ambos os óleos proporcionaram repelência aos adultos, quando comparado com a testemunha. No entanto, ao se avaliar a repelência em relação às épocas de aplicação (antes e depois da infestação), nota-se que os óleos essenciais não atuaram de forma diferente sobre os pulgões (Tabela 8), ou seja, a época de aplicação desses não interferiu no número de pulgões vivos. Esse resultado demonstra que os óleos essenciais poderiam ser aplicados, tanto para o controle dos insetos-praga, quanto para a profilaxia.

Tabela 7 Valores médios do número de adultos vivos no teste de repelência para concentração dos óleos essenciais.

Concentração (%)	Número de adultos vivos	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
0	3,80 a	3,70 a
0,1	3,06 b	2,00 b
0,5	2,63 b	1,39 c

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 8 Valores médios do número de adultos vivos no teste de repelência para época de aplicação.

Época de aplicação	Número de adultos vivos	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
Antes	3,27 a	2,53 a
Depois	3,05 a	2,19 a

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação ao número de ninfas, considerando o fator concentração, observa-se pelos dados da Tabela 9 que os óleos essenciais avaliados interferiram na oviposição, pois quanto maior a concentração utilizada, menor foi o número de ninfas depositadas pelas fêmeas adultas, ou seja, os óleos essenciais afetaram de alguma forma a reprodução dessas fêmeas. Com esses resultados, infere-se que os óleos essenciais podem atuar no controle de afídeos.

Pelos resultados apresentados na Tabela 10, nota-se que os óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L. proporcionaram atuação diferenciada para o número de ninfas, variando a época de aplicação. Com esses resultados, observa-se que os óleos poderiam ser utilizados no controle dos afídeos e não na profilaxia, pois quando eles foram aplicados após a infestação com os pulgões, eles reduziram o número de ninfas depositadas e conseqüentemente, interferiram na reprodução dos adultos.

Tabela 9 Valores médios do número de ninfas no teste de repelência para concentração dos óleos essenciais.

Concentração (%)	Número de ninfas	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
0	5,62 a	5,79 a
0,1	4,32 b	4,25 b
0,5	3,62 c	2,90 c

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 10 Valores médios do número de ninfas no teste de repelência para época de aplicação.

Época de aplicação	Número de ninfas	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
Antes	4,76 a	4,85 a
Depois	4,28 b	3,77 b

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A repelência dos óleos essenciais foi avaliada por Caballero-Gallardo, Olivero-Versel e Stashenko (2012). Esses, estudando os óleos de *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon flexuosus* e *Lippia origanoides* contra *Tribolium castaneum*, encontraram que a ação repelente desses óleos diminuiu, na ordem, *Cymbopogon martinii*, seguido do *C. flexuosus* e *L. origanoides*; e que essa ação foi dose-dependente às concentrações avaliadas, resultados que corroboram com o encontrado neste estudo. Segundo os autores, todos os óleos essenciais foram

mais eficazes como repelentes, quando comparado com o produto comercial IR3535. Assim, com esses resultados infere-se que os óleos essenciais avaliados podem ser úteis em formulações repelentes contra *T. castaneum*.

Considerando o teste de duração de repelência para as concentrações avaliadas dos óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L., nota-se pelos dados apresentados na Tabela 11 que o número de afídeos vivos decresceu com o acréscimo da concentração, significando que a repelência aos pulgões foi dose-dependente às concentrações testadas.

Tabela 11 Valores médios do número de adultos vivos no teste de duração de repelência para concentração dos óleos essenciais.

Concentração (%)	Número de adultos vivos	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
0	3,82 a	2,76 a
0,1	3,06 b	1,35 b
0,5	1,28 c	1,33 b

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

No entanto, avaliando a duração de repelência para os intervalos de tempo aplicados descritos na Tabela 12, adverte-se que os tempos não influenciaram a repelência aos pulgões, uma vez que o número de adultos vivos permaneceu inalterado, mostrando assim que, com o passar dos dias, os óleos essenciais não perderam sua eficiência.

Tabela 12 Valores médios do número de adultos vivos no teste de duração de repelência para intervalo de tempo.

Intervalo de tempo (dias)	Número de adultos vivos	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
1	2,57 a	1,69 a
3	2,87 a	1,84 a
6	2,73 a	1,89 a

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação ao número de ninfas pelas concentrações testadas, observa-se pelos dados descritos na Tabela 13 que ambos os óleos interferiram na reprodução das fêmeas adultas, pois o número de ninfas reduziu com o aumento das concentrações utilizadas. Pelos dados apresentados na Tabela 14, nota-se que a eficiência do óleo essencial de *Mentha spicata* L. decresceu com os dias da aplicação; no 6º dia após a aplicação das soluções do óleo, observa-se que o número de ninfas aumentou, significando de fato que, com o decorrer dos dias, o óleo provavelmente volatilizou-se, fazendo com que perdesse a eficácia esperada. No entanto, esse aumento no número de ninfas não foi observado para o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth., uma vez que, com o decorrer dos dias, o número de ninfas se manteve inalterado. A diferença na atuação dos óleos essenciais provavelmente pode ser explicada pela distinção em sua constituição química pois o óleo essencial de *Mentha* é composto, em sua maioria por terpenos, e o de *Lippia*, por fenólicos.

Tabela 13 Valores médios do número de ninfas no teste de duração de repelência para concentração dos óleos essenciais.

Concentração (%)	Número de ninfas	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
0	4,43 a	3,52 a
0,1	3,41 b	1,86 b
0,5	1,82 c	1,72 b

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 14 Valores médios do número de ninfas no teste de duração de repelência para intervalo de tempo.

Intervalo de tempo (dias)	Número de ninfas	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
1	3,09 a	2,18 b
3	3,20 a	2,40 ab
6	3,37 a	2,51 a

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

O teste de não preferência com chance de escolha avaliou a preferência dos afídeos pelas seções foliares borrifadas com as diferentes concentrações dos óleos essenciais. Pelos dados apresentados na Tabela 15, observa-se que os pulgões tiveram uma maior preferência pelas seções da testemunha (água + Tween 80) e da concentração de 0,1% de óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth, quando comparado as seções do tratamento com concentração de 0,5%.

Além disso, ao avaliar a influência do intervalo de tempo (horas) no número de adultos vivos pelos dados apresentados na Tabela 16, observa-se que esse intervalo não alterou a preferência dos afídeos, uma vez que, com o decorrer das horas (24, 48 e 72 horas), o número de pulgões nas seções foliares se manteve constante.

Tabela 15 Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/com chance de escolha para concentração do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth.

Concentração (%)	Número de adultos vivos
0	2,67 a
0,1	2,07 ab
0,5	1,70 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 16 Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/com chance de escolha para intervalo de tempo para o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth.

Intervalo de tempo (horas)	Número de adultos vivos
24	2,10 a
48	2,16 a
72	2,17 a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Analisando o número de ninfas presentes nas seções foliares tratadas com as diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. (Tabela 17), percebe-se que as concentrações de 0,1 e 0,5% do óleo essencial influenciaram a reprodução dos afídeos, quanto comparado com a testemunha, sendo menos preferidas para a oviposição dos adultos. Fato esse, que vem a comprovar que os produtos naturais, como os óleos essenciais, podem ser considerados como fontes alternativas para o manejo de insetos-praga.

Ao se avaliar os dados apresentados na Tabela 18, na qual se descreve o número de ninfas nas seções foliares variando o intervalo de tempo (horas) para o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth., constata-se que o efeito do óleo essencial manteve-se constante com o decorrer do tempo.

Tabela 17 Valores médios do número de ninfas no teste de não preferência/com chance de escolha para concentração do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth.

Concentração (%)	Número de ninfas
0	4,23 a
0,1	3,12 b
0,5	2,13 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 18 Valores médios do número de ninfas no teste de não preferência/com chance de escolha para intervalo de tempo para o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth.

Intervalo de tempo (horas)	Número de ninfas
24	2,90 a
48	3,26 a
72	3,33 a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Para o teste de não preferência com chance de escolha avaliando o óleo essencial de *Mentha spicata* L., observa-se pelos dados da Tabela 19 que houve uma interação significativa entre concentração e intervalo de tempo (horas). Assim, as seções tratadas com as concentrações de 0,1 e 0,5%, independentemente do intervalo de avaliação, foram menos preferidas para a alimentação pelos pulgões adultos.

Tabela 19 Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/com chance de escolha para concentração e intervalo de tempo do óleo essencial de *Mentha spicata* L.

Concentração (%)	Número de adultos vivos		
	Intervalo de tempo (horas)		
	24	48	72
0	2,36 a	2,74 a	2,56 a
0,1	2,05 b	1,91 b	1,87 b
0,5	1,97 b	1,67 b	1,85 b

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Analisando o número de ninfas para o óleo essencial de *Mentha spicata* L. (Tabela 20), constata-se também que houve uma interação significativa entre os fatores avaliados (concentração e intervalo de tempo). Para as 24 horas, o número de ninfas nas seções foliares tratadas com a testemunha e com a concentração de 0,1% foram mais preferidas pelos afídeos para a reprodução, apresentando dessa forma, um maior número de ninfas em relação à concentração de 0,5%. Para as 48 horas, o número de ninfas reduziu proporcionalmente com as concentrações testadas, ou seja, quanto maior a concentração, menor o número de ninfas. Já as 72 horas, os tratamentos com as concentrações de 0,1 e de 0,5% diferiram estatisticamente da testemunha, ou seja, os adultos preferiram ovipositar nas plantas tratadas com água+Tween.

Tabela 20 Valores médios do número de ninfas no teste de não preferência/com chance de escolha para concentração e intervalo de tempo do óleo essencial de *Mentha spicata* L.

Concentração (%)	Número de ninfas		
	Intervalo de tempo (horas)		
	24	48	72
0	2,95 a	4,16 a	4,16 a
0,1	2,74 a	2,69 b	2,99 b
0,5	2,07 b	1,95 c	2,58 b

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Nerio, Olivero-Verbel e Stashenko (2009), estudando a atividade repelente do óleo essencial das plantas aromáticas *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus citriodora*, *Lippia origanoides*, *Lippia alba*, *Cananga odorata*, *Tagetes lucida* e *Rosmarinus officinalis*, cultivadas na Colômbia, contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky pelo método de preferência de área, nas concentrações de 0,063; 0,126; 0,252; e 0,503 (mL cm²)⁻¹, encontraram que todos os óleos essenciais, exceto para *L. alba*, proporcionaram alguma atividade repelente e que os melhores repelentes foram os óleos de *L. origanoides*, *E. citriodora* e *T. lucida*. Segundo os autores, o óleo essencial de *Lippia origanoides* foi o repelente mais ativo, possivelmente devido à presença do timol, que é considerado um inseticida botânico. Esses resultados corroboram com os encontrados neste trabalho, uma vez que os óleos essenciais em estudo também apresentaram atividade repelente. Levando em consideração a composição química do óleo essencial de *Lippia origanoides*, em que o composto majoritário é o carvacrol e não o timol, como citado pelos autores, observa-se que em ambos os trabalhos foi verificada a atividade repelente.

O teste de não preferência sem chance de escolha avaliou a capacidade dos óleos essenciais em causarem toxicidade aos afídeos de *Myzus persicae* Sulzer. Assim, pelos dados apresentados nas Tabelas 21 e 22, verifica-se que, variando as concentrações dos óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L., e os intervalos de tempo (horas) de exposição, os óleos não foram capazes de causar toxicidade aos afídeos. Com isso, o número de pulgões dos tratamentos com os óleos essenciais não variou estatisticamente, quando comparado com a testemunha.

Tabela 21 Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/sem chance de escolha para concentração dos óleos essenciais.

Concentração (%)	Número de adultos vivos	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
0	2,34 a	2,34 a
0,1	2,33 a	2,28 a
0,5	2,27 a	2,26 a

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 22 Valores médios do número de adultos vivos no teste de não preferência/sem chance de escolha para intervalo de tempo.

Intervalo de tempo (horas)	Número de adultos vivos	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
24	2,33 a	2,31 a
48	2,32 a	2,29 a
72	2,30 a	2,28 a

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Para o número de ninfas, variando as concentrações dos óleos essenciais estudados (Tabela 23), verifica-se que para o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. não houve diferença estatística no número de ninfas para a testemunha e o tratamento de 0,1%, no entanto, superior ao encontrado para o tratamento de 0,5%. Já para o óleo essencial de *Mentha spicata* L., a medida que

se aumentou a concentração do óleo, houve um decréscimo no número de ninfas depositadas pelas fêmeas dos afídeos, ou seja, a testemunha proporcionou o maior número de ninfas, seguida dos tratamentos de 0,1 e 0,5%, respectivamente.

Tabela 23 Valores médios do número de ninfas no teste de não preferência/sem chance de escolha para concentração dos óleos essenciais.

Concentração (%)	Número de ninfas	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
0	3,98 a	3,90 a
0,1	3,54 a	2,90 b
0,5	2,66 b	2,30 c

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth., o número de ninfas não variou estatisticamente com o intervalo de tempo, para o teste de não preferência sem chance de escolha (Tabela 24), comprovando que o óleo essencial não deixa de demonstrar sua eficácia com o decorrer do tempo. Contudo, o óleo essencial de *Mentha spicata* L. não se porta como o de *Lippia*, uma vez que, com o passar das horas, apresentou um aumento no número de ninfas depositadas, inferindo que esse, com o decorrer do tempo, reduz sua eficácia contra os pulgões. A diferença na atuação dos óleos essenciais provavelmente pode ser explicada pela distinção na sua constituição química, pois o óleo essencial de *Mentha* é composto em sua maioria por terpenos, ao passo que o de *Lippia*, por compostos fenólicos.

Tabela 24 Valores médios do número de ninfas no teste de não preferência/sem chance de escolha para intervalo de tempo.

Intervalo de tempo (horas)	Número de ninfas	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
24	3,36 a	2,91 b
48	3,37 a	3,00 ab
72	3,45 a	3,18 a

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Zapata e Smagghe (2010) avaliaram a atividade repelente, bem como a toxicidade por contato e fumigante, de quatro óleos essenciais extraídos das folhas e cascas de *Laurelia sempervirens* e *Drimys winteri* contra *Tribolium castaneum*. Observaram que os quatro óleos testados tiveram forte atividade repelente para *T. castaneum* pelo teste de arena com papel de filtro. Segundo os pesquisadores, após 4 horas de exposição, foi obtida uma repelência acima de 90% para os óleos de *L. sempervirens* em baixas concentrações [$0,032 (\mu\text{L cm}^2)^{-1}$], ao passo que para os óleos de *D. winteri*, foram necessárias concentrações de 3-10 vezes mais elevadas para atingir essa atividade. Ambos os óleos em estudo foram tóxicos para *T. castaneum*, quando aplicado por via tópica e por fumigação. Os valores de DL_{50} por aplicação tópica dos óleos *L. sempervirens* foram de 39 a 44 $\mu\text{g mg}^{-1}$ de inseto; e para os óleos de *D. winteri*, esses foram de 75 a 85 $\mu\text{g mg}^{-1}$ de inseto. Por fumigação, os valores de CL_{50} para os óleos *L. sempervirens* foram de 1,6 a 1,7 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar; ao passo que esses foram de 9,0 a 10,5 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar para os óleos de *D. winteri*.

4.5 Atividade acaricida

Pelos dados apresentados na Tabela 25, observa-se que quanto maior a concentração dos óleos essenciais de *Lippia organoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L., menor a distância percorrida pelos ácaros, ou seja, maior o efeito repelente dos óleos essenciais, comprovando, assim, que a atividade repelente sobre o ácaro *Tetranychus ludeni* Zacher foi dose-dependente às concentrações testadas.

Tabela 25 Valores médios das distâncias percorridas (mm) pelos ácaros em relação às concentrações dos óleos essenciais.

Concentração (%)	Distâncias percorridas (mm)	
	<i>Lippia organoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
0	16,52 a	16,52 a
0,25	9,16 a	11,40 b
0,50	9,00 ab	7,15 c
0,75	6,58 b	7,30 c
1,00	5,89 b	4,57 c
1,50	5,48 c	5,56 c

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 26 apresentam-se os valores médios das distâncias percorridas pelos ácaros em função do tempo de exposição. Pelos dados, nota-se que para o óleo essencial de *Mentha spicata* L., o tempo de exposição não alterou estatisticamente as distâncias percorridas pelos ácaros; contudo, para o óleo de *Lippia origanoides* Kunth., as distâncias percorridas foram alteradas com o tempo de exposição, mostrando que o óleo essencial perdeu sua eficácia com o tempo.

Tabela 26 Valores médios das distâncias percorridas (mm) pelos ácaros para tempo de exposição

Tempo (minutos)	Distância percorrida (mm)	
	<i>Lippia origanoides</i> Kunth.	<i>Mentha spicata</i> L.
20	7,35 b	7,96 a
40	9,28 ab	8,79 a
60	9,68 a	9,50 a

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Compostos naturais com atividades inseticidas e acaricidas têm sido utilizados no controle de pragas, com diferentes níveis de êxito. A toxicidade dos extratos etanólicos obtidos de *Lippia origanoides* e *Gliricidia sepium* sobre o ácaro *Tetranychus cinnabarinus* foi avaliada por Sivira et al. (2011). Os extratos etanólicos das folhas das espécies foram avaliados em diferentes concentrações (5, 10, 15, e 20%), utilizando a técnica de imersão das folha em disco. A oviposição do *Tetranychus cinnabarinus* foi reduzida a uma taxa de 43,7% e 57%, para os extratos de *Lippia origanoides* e *Gliricidia sepium*,

respectivamente. Além disso, os extratos causaram uma mortalidade de 42,2% e 72,5%, na concentração de 10% para os extratos de *Lippia* e *Gliricidia*, respectivamente. A mortalidade máxima causada por esses extratos na concentração de 20% foi de 96,6% e 100%, respectivamente.

Em busca de novas formas de controle da propagação de *Tetranychus urticae*, o óleo essencial de *Lippia sidoides* e seus constituintes majoritários (timol, carvacrol e *p*-cimeno) foram testados por Cavalcanti et al. (2010). Segundo esses autores, a taxa de mortalidade dos ácaros foi diretamente proporcional às concentrações testadas. Resultados esses que corroboram em parte com o deste trabalho, pois quanto maior a concentração dos óleos essenciais testada, maior foi o efeito repelente sobre o ácaro, e não a mortalidade. De acordo com os autores, o óleo essencial, o timol e o carvacrol exibiram uma atividade acaricida com CL_{50} de 0,011; 0,001 e 0,036 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, respectivamente. No entanto, o *p*-cimeno apresentou uma fraca atividade acaricida com CL_{50} de 3,020 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar. Consequentemente segundo os autores, os componentes avaliados deveriam provavelmente estar atuando de forma sinérgica para atingir a ação acaricida observada e, ainda, a ação sinérgica dos constituintes minoritários não pode ser totalmente desconsiderada.

Em relação à atividade acaricida dos óleos essenciais de espécies da família Lamiaceae; Calmasur, Aslan e Sahin (2006) estudaram os óleos essenciais de *Micromeria fruticosa* L., *Nepeta racemosa* L. e *Origanum vulgare* L. quanto à toxicidade contra as ninfas e os adultos de *Tetranychus urticae* Koch; e adultos de *Bemisia tabaci* Genn, nas concentrações de 0,5; 1; 1,5 e 2 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar. Como resultados, os autores obtiveram que os óleos essenciais de todas as três espécies causaram mortalidade mais elevada na dose de 2 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, a um tempo de exposição de 120 horas para ambas as pragas. Os autores concluíram que a maior mortalidade foi observada com a maior concentração de

óleo essencial e com o maior período de exposição. Esses resultados divergem dos encontrados neste estudo para o óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth.; no entanto, corroboram com os resultados para o óleo de *Mentha spicata* L., levando em consideração o tempo de exposição. Para a dose-dependência da atividade acaricida pelas concentrações testadas, os resultados de Calmasur, Aslan e Sahin (2006) vêm ao encontro dos resultados obtidos neste trabalho para ambos os óleos essenciais.

Sertkaya, Kaya e Soyly (2010), avaliando a composição química e a atividade acaricida dos óleos essenciais de orégano (*Origanum onites* L.), tomilho (*Timbra spicata* L. subsp. *spicata*), lavanda (*Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas*) e hortelã (*Mentha spicata* L.) contra adultos de *Tetranychus cinnabarinus*, observaram que o carvacrol foi o constituinte majoritário dos óleos de tomilho e orégano (70,93% e 68,23%, respectivamente), ao passo que α -tujona (65,78%) e a carvona (59,35%) foram os constituintes dos óleos essenciais de lavanda e hortelã, respectivamente. Quanto à atividade acaricida, os resultados indicaram que todos os óleos essenciais causaram mortalidade aos ácaros em diferentes concentrações e que não foram fitotóxicos para a planta hospedeira. Segundo os autores, os óleos essenciais de tomilho, orégano, hortelã e lavanda mostraram-se atividades acaricidas dose-dependentes com CL_{50} 0,53, 0,69, 1,83 e 2,92 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de ar, respectivamente; os óleos essenciais de tomilho e orégano apresentaram um maior poder acaricida. Esse fato não condiz com os resultados encontrados neste trabalho, pois como o constituinte majoritário do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. é o carvacrol (provável responsável pela atividade acaricida dos óleos de tomilho e orégano, segundo os autores), esperava-se que o efeito repelente do óleo não fosse influenciado pelo tempo de exposição; no entanto, não foi o resultado observado.

Motazedian, Ravan e Bandani (2012), com o intuito de investigar o efeito acaricida dos óleos essenciais extraídos de três diferentes plantas

medicinais, *Mentha longifolia*, *Salvia officinalis* (ambas Lamiaceae) e *Myrtus communis* (Myrtaceae) contra *Tetranychus urticae*, encontraram valores para CL_{50} dos óleos essenciais de 20,08; 60,93; 53,22 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, respectivamente. Esses resultados mostram que o óleo de *M. longifolia* possui a mais elevada atividade letal, ao passo que o de *S. officinalis*, a menor. Apesar de serem espécies da mesma família, os resultados mostraram que, de fato, não há concordância nas atividades encontradas. Além disso, os óleos essenciais de *M. longifolia*, *S. officinalis* e de *M. communis* demonstraram possuir efeito repelente, com ER_{50} de 147,47; 164,41 e 138,80 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, respectivamente.

4.6 Estruturas secretoras dos óleos essenciais

Pelas eletromicrografias das superfícies foliares de *Lippia origanoides* Kunth. obtidas por MEV (Figura 17), observa-se a presença de tricomas glandulares e não glandulares (tricomas tectores) em ambas as faces, adaxial e abaxial. Entre os tricomas glandulares, encontram-se tricomas glandulares capitados e tricomas glandulares peltados, ambos encontrados nas superfícies adaxial e abaxial. Todos os tricomas glandulares (capitados e peltados) e não glandulares foram mais abundantes na face abaxial, em relação à adaxial. Os tricomas não glandulares (tectores) também foram verificados como sendo de dois tipos: o primeiro possui formato cônico, estando presente apenas na superfície adaxial; o segundo possui formato alongado, apresentando maior densidade na superfície abaxial.

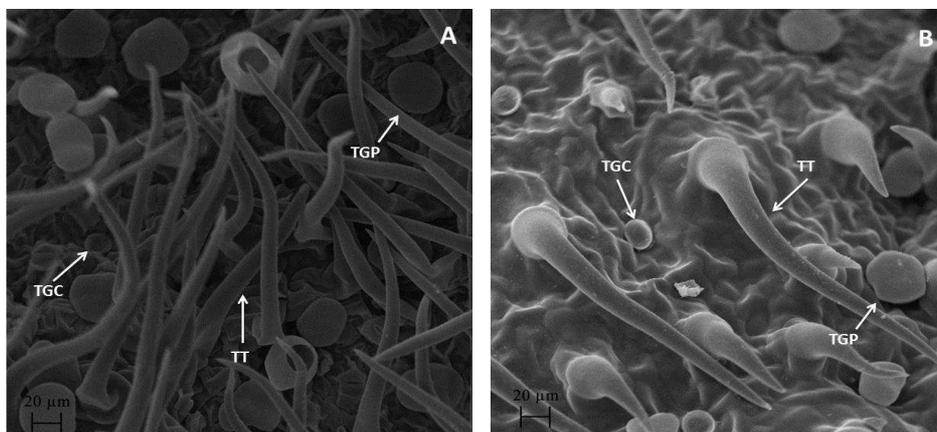


Figura 17 Eletromicrografia de varredura da superfície foliar de *Lippia origanoides* Kunth. A- Tricomas glandulares capitados (TGC), tricomas glandulares peltados (TGP) e tricomas tectores (TT) na superfície abaxial. B- Tricomas glandulares capitados (TGC), tricomas glandulares peltados (TGP) e tricomas tectores (TT) na superfície adaxial

Nas análises histoquímicas das seções transversais das folhas de *Lippia origanoides* Kunth., pôde-se observar reação positiva pelo teste com cloreto férrico, comprovando que alguns constituintes químicos sintetizados e armazenados nas estruturas secretoras dessa espécie são compostos fenólicos. No entanto, pelas reações com os reagentes Sudan IV e Nadi, também foi possível evidenciar a presença de substâncias lipídicas e terpenos nas estruturas secretoras (Figura 18), respectivamente; uma vez que apesar de se apresentarem em menores proporções, proporcionaram reações positivas com os reagentes citados.

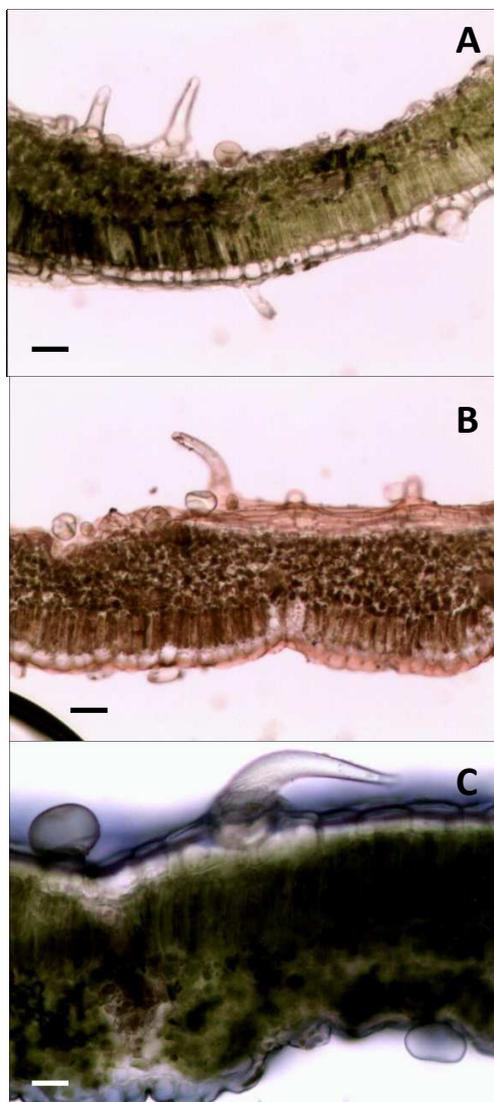


Figura 18 Seções transversais das folhas de *Lippia origanoides* Kunth. A- Reação com reagente cloreto férrico (detecção de compostos fenólicos), Barra= 50 μm . B- Reação com reagente Sudan IV (detecção de lipídeos), Barra= 50 μm . C- Reação com reagente Nadi (detecção de terpenos), Barra= 20 μm

Argyropoulou et al. (2010), estudando a morfologia e histologia de *Lippia citriodora* HBK, encontraram resultados que revelaram que folhas de *L. citriodora* possuem um tipo de cerdas (não glandular) e também cinco tipos de tricomas glandulares. Pela microscopia eletrônica de varredura, observaram que os mesmos tipos de tricomas existiam também em forma de cálices. Os testes histoquímicos realizados indicaram que os tricomas glandulares continham uma combinação de triterpenos, flavonoides, compostos fenólicos e alcaloides. Esses resultados divergem, em parte, dos encontrados neste trabalho, uma vez que as estruturas presentes em *Lippia origanoides* Kunth. foram apenas tricomas tectores cônicos, alongados e tricomas glandulares capitados e peltados.

As folhas de *Mentha spicata* L. apresentaram dois tipos de tricomas glandulares e um de tricoma não glandular, como pode ser observado nas eletromicrografias de varredura (Figura 19). Os tricomas glandulares apresentados por essa espécie foram tricomas glandulares capitados e tricomas glandulares peltados, ambos encontrados nas superfícies adaxial e abaxial. Todos os tricomas glandulares (capitados e peltados) e não glandulares foram mais abundantes na face abaxial, em relação à adaxial. O tricoma não glandular (tector) foi verificado como sendo de formato alongado, estando presente em ambas as superfícies; porém, apresentando maior densidade na superfície abaxial.

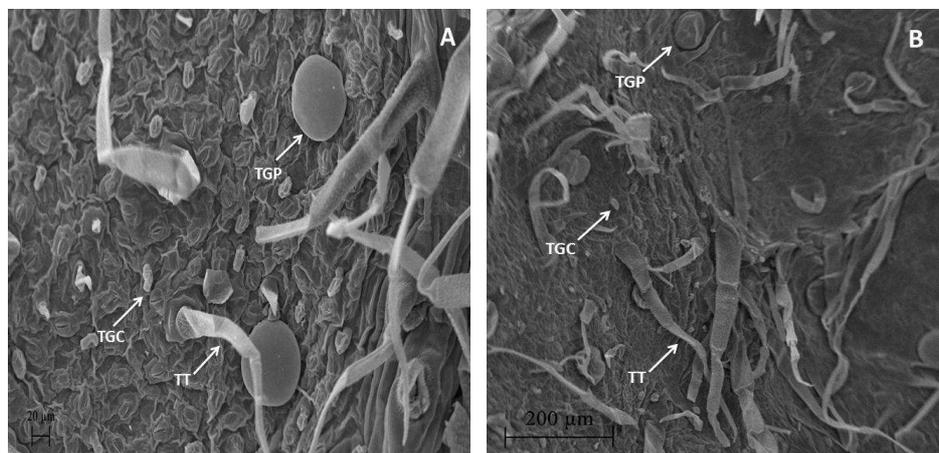


Figura 19 Eletromicrografia de varredura da superfície foliar de *Mentha spicata* L. A- Tricomas glandulares capitados (TGC), tricomas glandulares peltados (TGP) e tricomas tectores (TT) na superfície abaxial. B- Tricomas glandulares capitados (TGC), tricomas glandulares peltados (TGP) e tricomas tectores (TT) na superfície adaxial

A presença de óleos essenciais no interior dos tricomas glandulares de *Mentha spicata* L. foi confirmada pelas análises histoquímicas (Figura 20), que revelaram as reações positivas nas substâncias presentes no interior desses tricomas com o reagente Sudan IV e o reagente de Nadi, confirmando a presença de substâncias lipídicas e terpênicas, respectivamente. Pela reação negativa com o reagente cloreto férrico, nota-se que os constituintes dos óleos essenciais não são formados a partir dos compostos fenólicos, e sim via terpenos.

A morfologia e distribuição de tricomas glandulares observados nas folhas de *Mentha spicata* L. são características das Lamiaceae, como o principal local de secreções lipofílicas e corroboram com o trabalho de Vrachnakis (2003), que observou tricomas na parte aérea de *Origanum dictamnus* (Lamiaceae).

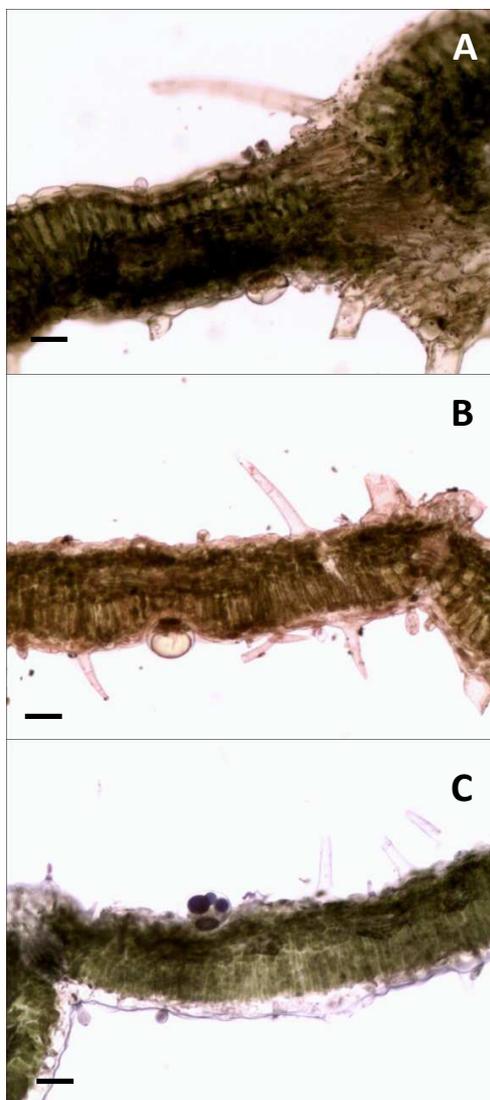


Figura 20 Seções transversais das folhas de *Mentha spicata* L. A- Reação com reagente cloreto férrico (detecção de compostos fenólicos), Barra= 50 μ m. B- Reação com reagente Sudan IV (detecção de lipídeos), Barra= 50 μ m. C- Reação com reagente Nadi (detecção de terpenos), Barra= 50 μ m

Martins (2002), estudando as espécies *Mentha spicata* L. e *Mentha spicata* X *suaveolens* (Lamiaceae), constatou que os tricomas capitados presentes em ambas as espécies foram classificados como do tipo I e que apresentaram uma célula basal, uma peduncular e uma grande célula apical, cujo formato variou de circular a piriforme. Nesses tricomas, segundo os autores, o material era expelido para o exterior, ao passo que nos tricomas peltados, permanecia no espaço subcuticular. De acordo com esses, os tricomas peltados de *Mentha spicata* L. e de *Mentha spicata* X *suaveolens* constituíram uma célula basal, uma peduncular curta e larga, com paredes externas cutinizadas. Apresentou, também, célula apical multicelular, com 12 células secretoras distribuídas radialmente em dois círculos concêntricos. Esses autores encontraram também uma predominância de tricomas glandulares capitados em relação aos tricomas glandulares peltados em ambas as espécies de *Mentha*, resultados esses que corroboram com os encontrados neste trabalho.

5 CONCLUSÃO

Os constituintes majoritários caracterizados e quantificados no óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. foram o carvacrol (39,80%), *p*-cimeno (19,59%), γ -terpineno (18,08%) e timol (4,53%); e no óleo essencial de *Mentha spicata* L., foram a piperitona (81,18%), piperitenona (14,57%) e limoneno (1,47%).

O óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. apresentou maior atividade antioxidante quando comparado com o de *Mentha spicata* L., com os menores valores de CI_{50} , em ambos os métodos avaliados.

Os óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. e de *Mentha spicata* L. proporcionaram repelência aos afídeos e aos ácaros, podendo esses óleos serem considerados importantes agentes no manejo integrado de pragas.

Em ambas as espécies, os óleos essenciais encontraram-se armazenados em tricomas glandulares localizados na superfície foliar.

REFERÊNCIAS

- AMER, A.; MEHLHORN, H. Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). **Parasitology Research**, Heidelberg, v. 99, n. 4, p. 466-472, Sept. 2006.
- ANGIONI, A. et al. Chemical composition, seasonal variability, and activity antifungal of *Lavandula stoechas* L. ssp. *Stoechas* essential oils from steam/leaves and flowers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 12, p. 4364-4370, June 2006.
- ARGYROPOULOU, C. et al. Leaf anatomy and histochemistry of *Lippia citriodora* (Verbenaceae). **Australian Journal of Botany**, Meuborne, v. 58, n. 5, p. 398-409, July 2010.
- BANDONI, A. L.; CZEPAK, M. P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil: seu aproveitamento industrial para a produção de aromas e sabores**. Vitória: EDUFES, 2008. 623 p.
- BARBOSA, S.; FRANÇA, F. H. As pragas do tomateiro e seu controle. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 6, n. 66, p. 37-40, 1980.
- BISIO, A. et al. Glandular hairs and secreted material in *Salvia blepharophylla* Brandege ex epling grown in Italy. **Annals of Botany**, London, v. 83, n. 4, p. 441-452, Apr. 1999.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. P. **Aphids on the world's crops: an identification guide**. Chichester: J. Wiley, 1984. 466 p.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 223-253, Aug. 2004.

CABALLERO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. E. Repellency and toxicity of essential oils from *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon flexuosus* and *Lippia origanoides* cultivated in Colombia against *Tribolium castaneum*. **Journal of Stored Products Research**, v. 50, p. 62-65, May 2012.

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

CANSIAN, R. L. et al. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera fujita*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, p. 378-384, abr./jun. 2010.

CAVALCANTI, S. C. H. et al. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 829-832, Sept. 2010.

CETIN, H. et al. Larvicidal activity of some Labiatae (Lamiaceae) plant extracts from Turkey. **Phytother Research**, London, v. 20, p. 1088-1090, 2006.

CHAUHAN, R. S. et al. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM(J)26] from North-West Himalayan region, India. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 29, p. 654-656, Dec. 2009.

CHU, S. S.; LIU, Q. R.; LIU, Z. L. Insecticidal activity and chemical composition of the essential oil of *Artemisia vestita* from China against *Sitophilus zeamais*. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 38, p. 489-492, Apr. 2010.

CLEMENTE, M. A. et al. Acaricidal activity of the essential oils from *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon nardus* on larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) and *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae), **Parasitology Research**, Heidelberg, v. 107, p. 987-992, July 2010.

COMBRICK, S. et al. Morphology and histochemistry of glandular trichomes of the *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). **Annals of Botany**, London, v. 99, n. 6, p. 1111-1119, Apr. 2007.

DASHORA, L. K.; DASHORA, A.; LAKHAWAT, S. S. Mint (pudina). In: Production Technology of Plantation Crops, Spices, Aromatic and Medicinal Plants. **Agrotech Publication Academy**, Udaipur, v. 20, p. 277-284, 2006.

DAVID, R.; CORDE, J. P. Calorisation différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritimeau* moyen du reactif Nadi. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Paris**, Paris, v. 258, p.1338-1340, 1964.

DESCHAMPS, C. et al. Avaliação sazonal do rendimento do óleo essencial em espécies de *Mentha*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 32, n. 3, p. 725-730, mar. 2008.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3. ed. Ottawa: J. Wiley, 2008. 539 p.

DIXON, A. F. G.; WELLINGS, P. W. Seasonality and reproduction in aphids. **International Journal of Invertebrate Reproduction**, Amsterdam, v. 5, n. 2, p. 83-89, 1982.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, Abr./June 2006.

ESCOBAR, P. et al. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp essential oils and their major components. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 105, p. 184-190, mar. 2010.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Ateneu, 2000. Parte I. p. 2-7.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERRONATTO, R. et al. Atividade antioxidante dos óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Arquivo de Ciências da Saúde da Unipar**, Umuarama, v. 10, p. 67-70, maio/ago. 2006.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância agrícola**. 6. ed. São Paulo: Nobel, 1989. 189 p.

FLECHTMANN, C. H. W.; BAKER, E. W. A preliminary report on the *Trenydae* (Acarina) of Brazil. **Annals of the Entomological Society of America**, Maryland, v. 63, n. 1, p. 156-163, 1970.

FRANZIOS, G. et al. Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 7, p. 2690-2694, Apr. 1997.

GAZIM, Z. C. et al. Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari; Ixodidae). **Experimental Parasitology**, San Diego, v. 129, n. 2, p. 175-178, Oct. 2011.

GERLACH, D. **Plant histochemistry and cytochemistry**. New York: Academic, 1984. 301 p.

GHASEMI, V.; MOHARRAMIPOUR, S.; TAHMASBI, G. Biological activity of some plant essential oils against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasitic mite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 147-154, Apr. 2011.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, mar./abr. 2007.

GOVINDARAJAN, M. et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. **Parasitology Research**, Heidelberg, v. 110, n. 5, p. 2023-2032, Dec. 2012.

GUIMARÃES, L. G. L. et al. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

ILHARCO, F. A. **Equilíbrio biológico dos afídeos**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992. 302 p.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 45-66, July 2006.

JIROVETZ, L. et al. Comparative investigation of essential oil and volatiles of spearmint. **Perfumer Flavorist**: the technical and business media source, v. 27, p. 16-22, 2002.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. 2nd ed. New York: Mc-Graw-Hill, 1940. 523 p.

KARNOVISKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, Stuttgart, v. 27, n. 1, p. 137-138, Oct. 1965.

KHANUJA, S. P. S. Employ contract farming to boost area under cultivation for essential oil bearing crops. In: business enabling of aromatic plants and products. **Chemistry Weekly**, Mombay, p. 180-184, 2007.

KOLIOPOULOS, G. et al. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. **Parasitology Research**, Heidelberg, v. 107, p. 327-335, Apr. 2010.

KOSTYUKOVSKY, M. et al. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. **Pest Management Science**, v. 58, p. 1101-1106, 2002.

LAWRENCE, B. M. **Mint**: the Genus *Mentha*. Boca Raton: CRC, 2006.

LIMA, R. K. et al. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 39, p. 377-382, out. 2009.

LIMA, R. K. et al. Caracterização química e atividade inseticida do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* L. sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, p. 1-5, jan./fev. 2010.

LIMA, R. K. et al. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 664-671, 2011.

- LIMA, R. K. et al. Composição dos óleos essenciais de anis-estrelado *Illicium verum* L. e de Capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: avaliação do efeito repelente sobre *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). **BioAssay**, v. 3, n. 8, p. 1-6, nov. 2008.
- LOPES-LUTZ, D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. **Phytochemistry**, New York, v. 69, n. 8, p. 1732-1738, May 2008.
- MARTINS, M. B. G. Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata* X *suaveolens* (Lamiaceae). **Bragantia**, Campinas, v. 61, p. 205-218, out. 2002.
- MESA, A. C. et al. Citral and carvone chemotypes from the essential oils of Colombian *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, p. 878-884, 2009.
- MORAES, G. J.; LEITE FILHO, A. S. Aspectos biológicos do ácaro-vermelho do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 16, p. 309-311, 1981.
- MORAIS, S. M. et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 19, p. 315-320, 2009.
- MORAIS, S. M. et al. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 907-910, set./out. 2006.
- MOTAZEDIAN, N.; RAVAN, S.; BANDANI, A. R. Toxicity and Repellency Effects of Three Essential Oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 14, p. 275-284, 2012.
- MOURA, N. S. G. **Avaliação de usos e da composição química dos óleos essenciais de algumas plantas aromáticas e medicinais utilizadas em Lisboa e Bragança**. 2011. 52p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia)-Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2011.

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

OLIVEIRA, D. R. et al. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. **Food Chemistry**, London, v. 101, p. 236-240, Jan. 2007.

PASCUAL, M. E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacol**, Netherlands, v. 76, p. 201-214, Oct. 2001.

PIMENTEL, F. A. et al. Ação fungitóxica do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. e K. Shum sobre o *Aspergillus flavus* isolado da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, n. 1, p. 213-220, 2010.

PONTES, W. J. T. et al. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 37, n. 4, p.103-110, Mar. 2007.

PRADO, A. C. P.; ARAGÃO, A. M.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 12, p. 323-332, 2009.

RATHER, M. A. et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of *Juglans regia* L. and its constituents. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 19, p. 1185-1190, Oct. 2012.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, p. 913-920, May 2010.

RIBEIRO, V. L. S. et al. Acaricidal properties of the essential oil and precocene II obtained from *Calea serrata* (Asteraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 179, p. 195-198, June 2011.

ROBARDS, A. W. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In: HALL, J. L. **Electron microscopy and cytochemistry of plant cells**. New York: Elsevier, 1978. p. 343-444.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, London, v. 69, n. 1, p. 167-174, May 2000.

SACCHETTI, G. et al. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, London, v. 91, n. 4, p. 621-632, Aug. 2005.

SAFAEI-GHOMI, J. et al. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramancus* Jalas and its main constituent carvacrol. **Food Chemistry**, London, v. 115, n. 4, p. 1524-1528, Aug. 2009.

SANTOS, B. R. et al. Aspectos da anatomia e do óleo essencial em folhas de Pindaíba (*Xylopiá brasiliensis* Spreng.). **Ciência e Tecnologia**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 2, p. 345-349, mar. 2004.

SANTOS, F. J. B. et al. Composition and biological activity of essential oils from *Lippia organoides* HBK. **Journal of Essential oil Research**, v. 16, p. 504-506, 2004.

SARTORATTO, A. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, Oct. 2004.

SERTKAYA, E.; KAYA, K.; SOYLU, S. Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae). **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 31, p. 107-112, Sept. 2010.

SILVEIRA, L. C. P.; VENDRAMIM, J.D.; ROSSETO, C. J. Não preferência para alimentação da lagarta-do-cartucho em milho. **Bragantia**, Campinas, v. 57, p. 105-111, 1998.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: UFSC/UFRGS, 2007. 1104 p.

SIVIRA, A. et al. Toxicity of Ethanolic Extracts from *Lippia organoides* and *Gliricidia sepium* to *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 375-379, 2011.

SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 41, p. 95-100, 2005.

SOUTO, R. N. P.; HARADA, A. Y.; MAIA, J. G. S. Estudos preliminares da atividade inseticida de óleos essenciais de espécies de *Piper linneus* (piperaceae) em operárias de *Solenopsis saevissima* f Smith (Hymenoptera: formicidae), em laboratório. **Biota Amazônica**, Macapá, v. 1, p. 42-48, 2011.

SOUZA-SILVA, C. R.; PACHECO, J. B.; ILHARCO, F. A. Afídeos da alfafa no Brasil (Homoptera, Aphidoidea). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 41, p. 285-288, 1995.

STASHENKO, E. E. et al. Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia origanoides* H. B. K. grown in Colombia. **Natural Product Communications**, Westerville, v. 3, p. 563-566, 2008.

STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; SILVA, C. F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. **Eclética Química**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 7-13, 2009.

SVOBODA, K. P.; GREENAWAY, R. I. Investigation of volatile oil glands of *Satureja hortensis* L. (summer savory) and phytochemical comparison of different varieties. **The International Journal of Aromatherapy**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 196-202, Apr. 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TELICI, I. et al. Environmental variation on aroma components of pulegone/piperitone rich spearmint (*Mentha spicata* L.). **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 32, p. 588-592, July 2010.

TERBLANCHÉ, F. C.; KORNELIUS, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) - a literature review. **Journal Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 8, n. 3, p. 471-485, May 1996.

THOMAZINI, A. P. B.; VENDRAMIM, J. D.; LOPES, M. T. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 1, p. 13-17, jan./mar. 2000.

- TRABOUSLI, A. F. et al. Insecticidal properties of essential oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science**, Sussex, v. 58, n. 5, p. 491-495, May 2002.
- TRIPATHI, A. K. et al. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 1, p. 52-63, 2009.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 273-286, jul. 2002.
- VIEGAS JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 390-400, out. 2003.
- VICUÑA, G. C.; STASHENKO, E. E.; FUENTES, J. L. Chemical composition of the *Lippia origanoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. **Fitoterapia**, v. 81, p. 343-349, Oct. 2010.
- VRACHNAKIS, T. Trichomes of *Origanum dictamnus* L. (Labiatae). **Phyton-Annales Rei Botanicae**, Horn, v. 4, n. 1, p. 109-133, 2003.
- WANG, W. et al. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. **Food Chemistry**, London, v. 108, n. 3, p. 1019-1022, June 2008.
- YE, C. L.; DAI, D. H.; HU, W. L. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (*Allium cepa* L.). **Food Control**, Amsterdam, v. 30, p. 48-53, July 2013.
- ZAPATA, N.; SMAGGHE, G. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 32, p. 405-410, June 2010.
- ZHANG, H. et al. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. **Food Research International**, Amsterdam, v. 39, n. 8, p. 833-839, Oct. 2006.
- ZHU, L.; TIAN, Y. Chemical composition and larvicidal activity of *Blumea densiflora* essential oils against *Anopheles anthropophagus*: a malarial vector mosquito. **Parasitology Research**, Heidelberg, v. 109, p. 1417-1422, May 2011.

YONIS, Y. M., BESHIR, S. M. Carvone rich essential oil from *Mentha longifolia* (L) Huds. Ssp. Schimperi Briq. and *Mentha spicata* L. grown in Sudan. **Journal Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 16, n. 6, p. 539-541, Nov./Dec. 2004.

WESTON, P.A.; SNYDER, J.C. Thumbtack bioassay: a quick method of measuring plant resistance to twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.83, n. 2, p.500-504, Apr. 1990.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Cromatogramas dos óleos essenciais das duas plantas estudadas

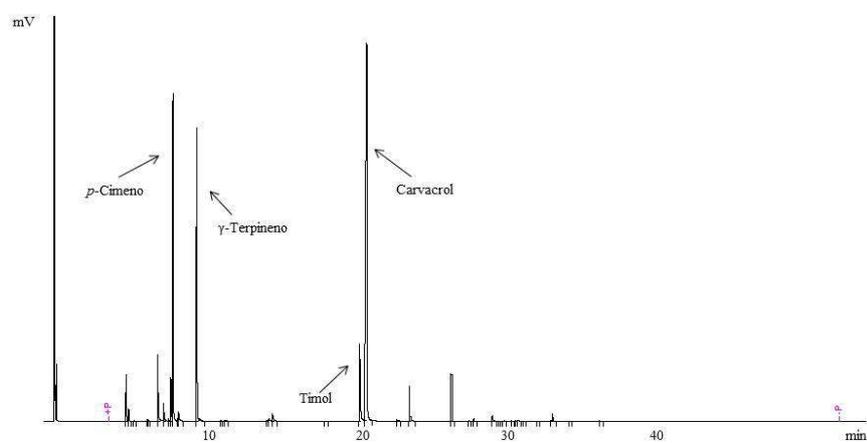


Figura 1A Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth.

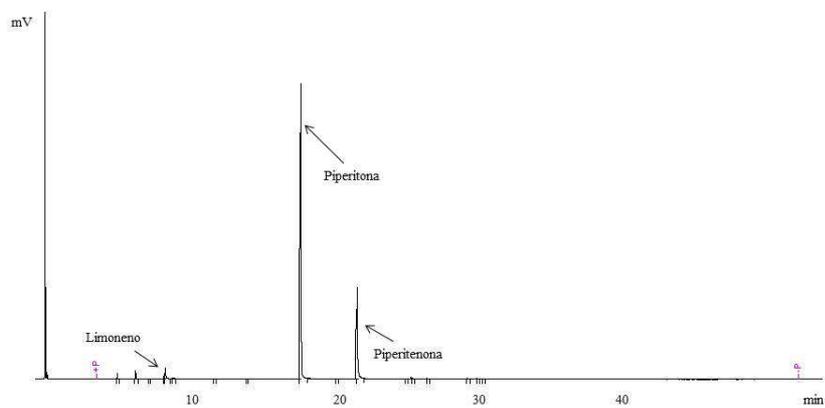


Figura 2A Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas frescas de *Mentha spicata* L.

APÊNDICE B – Tabelas de análises de variância das atividades antioxidantes

Tabela 1B Análise de variância para a porcentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais pelo método β -caroteno/ácido linoleico.

FL	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	7	8790,18	1255,73	74,04*	0,00
Óleo	1	4372,89	4372,85	257,83*	0,00
Conc. x Óleo	7	538,61	76,94	4,54*	0,00
Erro	48	814,09	16,96		
Total	63	14515,67			

CV= 16,3%

Tabela 2B Desdobramento da interação Concentração: Óleo.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Conc.: <i>Lippia</i>	7	6254,83	893,55	52,68*	0,00
Conc.: <i>Mentha</i>	7	3073,89	439,13	25,89*	0,00
Erro	48	814,09	16,96		

Tabela 3B Análise de regressão para a porcentagem de atividade antioxidante do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pelo método β -caroteno/ácido linoleico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	R ²
E. 1ºG	1	5102,77	5102,77	300,86*	81,6%
E. 2ºG	1	976,72	976,72	57,59*	97,2%
Desvio	5	175,34	35,07	2,07	
Erro	48	814,09	16,96		

Tabela 4B Análise de regressão para a porcentagem de atividade antioxidante do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo método β -caroteno/ácido linoleico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	R ²
E. 1ºG	1	1792,35	1792,35	105,68*	58,3%
E. 2ºG	1	897,84	897,84	52,94*	87,5%
Desvio	5	383,70	76,74	4,52*	
Erro	48	814,09	16,96		

Tabela 5B Desdobramento da interação Óleo: Concentração.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Óleo: 25	1	69,27	69,27	4,08*	0,04
Óleo: 50	1	333,59	333,59	19,67*	0,00
Óleo: 100	1	703,31	703,31	41,47*	0,00
Óleo: 150	1	385,45	385,45	22,73*	0,00
Óleo: 200	1	501,49	501,49	29,57*	0,00
Óleo: 250	1	657,03	657,03	38,74*	0,00
Óleo: 300	1	751,56	751,56	44,31*	0,00
Óleo: 500	1	1509,75	1509,75	89,02*	0,00
Erro	48	814,09	16,96		

Tabela 6B Análise de variância para a porcentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais pelo método de sequestro de radicais DPPH.

FL	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	7	5126,88	732,41	122,53*	0,00
Óleo	1	7320,51	7320,51	1224,73*	0,00
Conc. x Óleo	7	2005,76	286,53	47,94*	0,00
Erro	48	286,91	5,98		
Total	63	14740,06			

CV= 14,7%

Tabela 7B Desdobramento da interação Concentração: Óleo.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Conc.: <i>Lippia</i>	7	6711,28	958,75	160,40*	0,00
Conc.: <i>Mentha</i>	7	421,35	60,19	10,07*	0,00
Erro	48	286,91	5,98		

Tabela 8B Análise de regressão para a porcentagem de atividade antioxidante do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pelo método β -caroteno/ácido linoleico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	R ²
E. 1ºG	1	6161,53	6161,53	1030,83*	91,8%
E. 2ºG	1	452,57	452,57	75,71*	98,5%
Desvio	5	97,18	19,44	3,25*	
Erro	48	286,91	5,98		

Tabela 9B Análise de regressão para a porcentagem de atividade antioxidante do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo método β -caroteno/ácido linoleico.

FV	GL	SQ	QM	Fc	R ²
E. 1ºG	1	416,31	416,31	69,64*	98,8%
E. 2ºG	1	2,79	2,79	0,47	99,5%
Desvio	5	2,25	0,45	0,07	
Erro	48	286,91	5,98		

Tabela 10B Desdobramento da interação Óleo: Concentração.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Óleo: 25	1	19,06	19,06	3,19	0,08
Óleo: 50	1	96,26	96,26	16,10*	0,00
Óleo: 100	1	589,45	589,45	98,61*	0,00
Óleo: 150	1	877,80	877,80	146,86*	0,00
Óleo: 200	1	1137,64	1137,64	190,33*	0,00
Óleo: 250	1	2081,09	2081,09	348,17*	0,00
Óleo: 300	1	1773,99	1773,99	296,79*	0,00
Óleo: 500	1	2750,96	2750,96	460,24*	0,00
Erro	48	286,91	286,91		

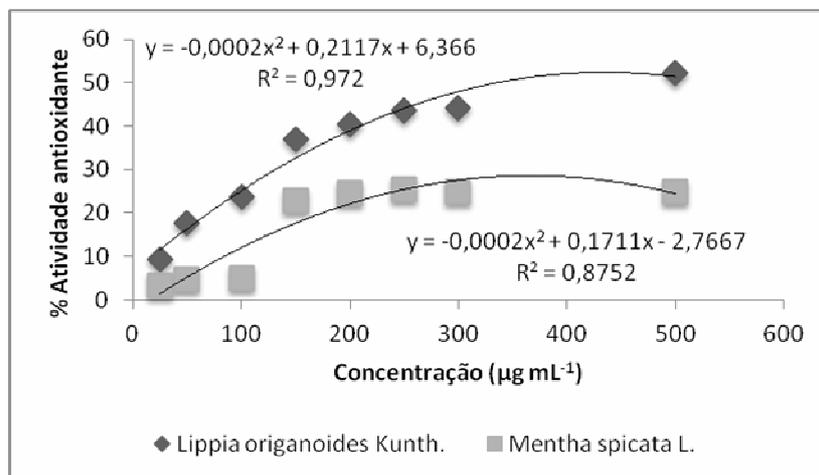


Figura 1B Equações de regressão para concentração e para a porcentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais pelo método β-caroteno/ácido linoleico

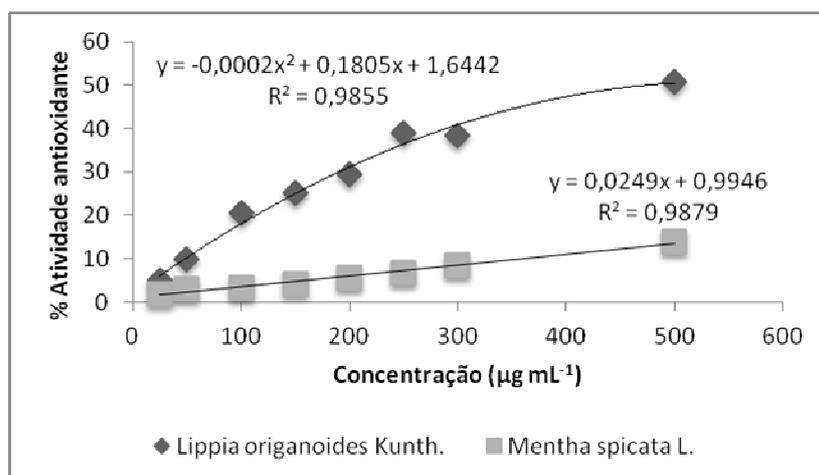


Figura 2B Equações de regressão para concentração e para a porcentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais pelo método de sequestro de radicais DPPH

APÊNDICE C – Tabelas de análises de variância das atividades inseticidas

Tabela 1C Análise de variância para número de adultos vivos do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pelo efeito de repelência.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	6,94	3,47	16,89*	0,00
Época	1	0,39	0,39	1,89	0,18
Conc. x Época	2	1,19	0,59	2,90	0,07
Erro	24	4,93	0,20		
Total	29	13,45			

CV= 14,3%

Tabela 2C Análise de variância para número de ninfas do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pelo efeito de repelência.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	20,66	10,33	32,37*	0,00
Época	1	1,72	1,72	5,40*	0,03
Conc. x Época	2	0,23	0,11	0,36	0,69
Erro	24	7,66	0,32		
Total	29	20,27			

CV= 12,5%

Tabela 3C Análise de variância para número de adultos vivos do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo efeito de repelência.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	28,61	14,30	59,68*	0,00
Época	1	0,89	0,87	3,62	0,07
Conc. x Época	2	0,06	0,03	0,13	0,87
Erro	24	5,75	0,24		
Total	29	35,21			

CV= 20,7%

Tabela 4C Análise de variância para número de ninfas do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo efeito de repelência.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	41,74	20,86	18,20*	0,00
Época	1	8,56	8,56	7,46*	0,01
Conc. x Época	2	0,47	0,23	0,20	0,81
Erro	24	27,51	1,14		
Total	29	78,28			

CV= 24,8%

Tabela 5C Análise de variância para número de adultos vivos do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pela duração do efeito de repelência.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	50,87	25,43	194,22*	0,00
Intervalo	2	0,73	0,36	2,78	0,07
Conc. x Interv.	4	0,34	0,09	0,66	0,62
Erro	36	4,71	0,13		
Total	44	56,65			

CV= 13,3%

Tabela 6C Análise de variância para número de ninfas do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pela duração do efeito de repelência

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	51,96	25,98	226,10*	0,00
Intervalo	2	0,60	0,29	2,61	0,08
Conc. x Interv.	4	0,72	0,18	1,57	0,20
Erro	36	4,13	0,11		
Total	44	57,41			

CV= 10,5%

Tabela 7C Análise de variância para número de adultos vivos do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pela duração do efeito de repelência.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	20,17	10,08	127,56*	0,00
Intervalo	2	0,32	0,16	2,05	0,14
Conc. x Interv.	4	0,33	0,08	1,07	0,38
Erro	36	2,84	0,08		
Total	44	23,66			

CV= 15,5%

Tabela 8C Análise de variância para número de ninfas do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pela duração do efeito de repelência.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	30,22	15,11	218,09*	0,00
Intervalo	2	0,88	0,44	6,34*	0,00
Conc. x Interv.	4	0,70	0,17	2,51	0,06
Erro	36	2,49	0,07		
Total	44	34,29			

CV= 11,1%

Tabela 9C Análise de variância para número de adultos vivos do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pelo método de não preferência, com chance de escolha.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	14,24	7,12	5,03*	0,02
Blocos	9	1,02	0,11	0,08	0,99
Erro 1	18	25,46	1,41		
Horas	2	0,07	0,03	0,41	0,66
Conc. x Horas	4	0,57	0,14	1,60	0,18
Erro 2	54	4,80	0,09		
Total	89	46,20			

CV₁= 55,3%

CV₂= 13,9%

Tabela 10C Análise de variância para número de ninfas do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pelo método de não preferência, com chance de escolha.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	65,80	32,90	11,94*	0,00
Blocos	9	32,19	3,57	1,30	0,30
Erro 1	18	49,60	2,75		
Horas	2	3,20	1,60	3,05	0,06
Conc. x Horas	4	0,96	0,24	0,46	0,76
Erro 2	54	28,29	0,52		
Total	89	180,06			

CV₁= 52,4%
CV₂= 22,9%

Tabela 11C Análise de variância para número de adultos vivos do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo método de não preferência, com chance de escolha.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	8,79	4,39	7,06*	0,00
Blocos	9	0,55	0,06	0,09	0,99
Erro 1	18	11,20	0,62		
Horas	2	0,02	0,01	0,09	0,91
Conc. x Horas	4	1,48	0,37	3,18*	0,02
Erro 2	54	6,29	0,11		
Total	89	28,34			

CV₁= 37,3%
CV₂= 16,2%

Tabela 12C Desdobramento da interação concentração: horas (para número de adultos vivos do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo método de não preferência, com chance de escolha).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Conc.: 24	2	0,83	0,41	3,56*	0,03
Conc.: 48	2	6,21	3,10	26,64*	0,00
Conc.: 72	2	3,22	1,61	13,83*	0,00
Erro	54	6,29	0,11		

Tabela 13C Análise de variância para número de ninfas do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo método de não preferência, com chance de escolha.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	36,91	18,45	22,36*	0,00
Blocos	9	12,39	1,37	1,67	0,17
Erro 1	18	14,85	0,82		
Horas	2	6,40	3,20	8,92*	0,00
Conc. x Horas	4	5,95	1,48	4,14*	0,00
Erro 2	54	19,39	0,36		
Total	89	95,90			

CV₁= 31,1%

CV₂= 20,5%

Tabela 14C Desdobramento da interação concentração: horas (para número de ninfas do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo método de não preferência, com chance de escolha).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Conc.: 24	2	4,26	2,13	5,93*	0,00
Conc.: 48	2	25,27	12,63	35,19*	0,00
Conc.: 72	2	13,30	6,66	18,56*	0,00
Erro	54	19,39	0,36		

Tabela 15C Análise de variância para número de adultos vivos do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pelo método de não preferência, sem chance de escolha.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	0,07	0,03	1,03	0,37
Erro 1	27	0,93	0,03		
Horas	2	0,02	0,01	2,65	0,08
Conc. x Horas	4	0,02	0,01	1,06	0,38
Erro 2	54	0,25	0,01		
Total	89	1,30			

CV₁= 8,0%
CV₂= 2,9%

Tabela 16C Análise de variância para número de ninfas do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia origanoides* Kunth. pelo método de não preferência, sem chance de escolha.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	26,72	13,36	22,84	0,00
Erro 1	27	15,79	0,58		
Horas	2	0,17	0,08	0,47	0,62
Conc. x Horas	4	0,33	0,08	0,47	0,75
Erro 2	54	9,52	0,17		
Total	89	52,54			

CV₁= 22,5%
CV₂= 12,4%

Tabela 17C Análise de variância para número de adultos vivos do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo método de não preferência, sem chance de escolha.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	0,11	0,05	1,90	0,17
Erro 1	27	0,78	0,03		
Horas	2	0,01	0,01	2,47	0,09
Conc. x Horas	4	0,01	0,01	1,36	0,25
Erro 2	54	0,09	0,01		
Total	89	0,99			

CV₁= 7,4%

CV₂= 1,8%

Tabela 18C Análise de variância para número de ninfas do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L. pelo método de não preferência, sem chance de escolha.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	2	39,38	19,69	52,98*	0,00
Erro 1	27	10,03	0,37		
Horas	2	1,18	0,59	3,73*	0,03
Conc. x Horas	4	1,42	0,35	2,23	0,07
Erro 2	54	8,56	0,16		
Total	89	60,58			

CV₁= 20,1%

CV₂= 13,1%

APÊNDICE D – Tabelas de análises de variância da atividade acaricida

Tabela 1D Análise de variância para distância percorrida pelos ácaros do óleo essencial das folhas frescas de *Lippia organoides* Kunth.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	5	1010,17	202,03	25,25*	0,00
Tempo	2	74,17	37,08	4,64*	0,01
Conc. x Tempo	10	29,64	2,96	0,37	0,95
Blocos	3	39,62	13,20	1,65	0,18
Erro	51	408,00	8,00		
Total	71	1561,61			

CV= 32,2%

Tabela 2D Análise de variância para distância percorrida pelos ácaros do óleo essencial das folhas frescas de *Mentha spicata* L.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Valor p
Concentração	5	1195,68	239,13	36,76*	0,00
Tempo	2	28,58	14,29	2,19	0,12
Conc. x Tempo	10	55,06	5,51	0,84	0,58
Blocos	3	80,33	26,78	4,11*	0,01
Erro	51	331,77	6,50		
Total	71	1691,42			

CV= 29,1%