

## ATIVIDADE ACARICIDA DOS ÓLEOS ESSENCIAS DE FOLHAS E FRUTOS DE *Xylopiá sericea* SOBRE O ÁCARO RAJADO (*Tetranychus urticae* KOCH)

Wendel José Teles Pontes, José Cândido Selva de Oliveira e Cláudio Augusto Gomes da Câmara\*

Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, 52171-900 Recife – PE, Brasil

Manoel Guedes Correia Gondim Júnior e José Vargas de Oliveira

Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, 52171-900 Recife – PE, Brasil

Manfred Oswald Erwin Schwartz

Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-540 Recife – PE, Brasil

Recebido em 13/4/06; aceito em 30/8/06; publicado na web em 26/3/07

ACARICIDAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OILS OF LEAVES AND FRUITS OF *Xylopiá sericea* St. Hill. ON THE TWO SPOTTED SPIDE MITE (*Tetranychus urticae* Koch). The essential oils of the leaves and fruits obtained by hydrodistillation of *Xylopiá sericea*, collected in the restinga area of Pernambuco, were analyzed by GC (HP 5890 SERIES II) and GC/MS (HP 5890B SERIES II/MSD 5971). A major part of the volatile components identified in the oils of fruits and leaves were monoterpenes and sesquiterpenes. Cubenol (57.43%) and  $\alpha$ -epi-muurolool (26.09%) were the main compounds found in the leaves, whereas  $\beta$ -pinene (45.59%) and  $\alpha$ -pinene (17.18%) were the fruits major components. The acaricidal activity of the essential oils was evaluated for *Tetranychus urticae*. The oil of the leaves was more active than that of the fruits showing an  $LC_{50}$  value of 4.08  $\mu$ L/L of air for a 72 h period.

Keywords: *Xylopiá sericea*; essential oil constituents; *Tetranychus urticae*.

### INTRODUÇÃO

A procura por novas espécies vegetais com atividade inseticida tem aumentado nos últimos anos, devido aos problemas ambientais causados pelo uso indiscriminado de inseticidas sintéticos na proteção de culturas em todo o mundo. Como resultado, vários estudos levaram à identificação de plantas inseticidas e à caracterização de seus respectivos compostos bioativos<sup>1</sup>. Dentre os compostos naturais comprovadamente bioativos, destacam-se o piretro, nicotina, rotenona e azadiractina, isolados a partir das espécies *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trev.), *Nicotiana tabacum* L., *Derris* sp. e *Azadirachta indica* A. Juss., respectivamente<sup>1</sup>.

Das inúmeras espécies vegetais utilizadas, com sucesso, no controle de pragas agrícolas, algumas são pertencentes à família Annonaceae<sup>2</sup>. Essa família compreende cerca de 130 gêneros e aproximadamente 2300 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais na África, Ásia, Austrália, América Central e do Sul<sup>3</sup>. No Brasil, esta família está bem representada com aproximadamente 27 gêneros e 290 espécies, sendo que o gênero *Xylopiá* é um dos maiores com mais de 150 espécies, amplamente distribuídas em diversas partes do mundo. No Brasil, esse gênero é típico do cerrado, embora ocorra em ambientes com estratos arbustivo e arbóreo mais densos.

Muitas espécies do gênero *Xylopiá* têm sido estudadas quanto à caracterização de sua composição química, identificando-se alcalóides, compostos voláteis, flavonóides, terpenóides e esteróis<sup>3-6</sup>.

O gênero *Xylopiá* é reconhecido por apresentar propriedades medicinais, dentre as quais destacam-se as atividades antimicrobiana<sup>7,8</sup> e citotóxica<sup>9</sup>. Como a busca por propriedades inseticidas em plantas medicinais tem crescido nos últimos anos<sup>10</sup>, a literatura tem relatado estudos onde o potencial acaricida, inseticida e nematicida de espécies do gênero *Xylopiá* é avaliado quanto a sua

eficácia no controle de pragas agrícolas<sup>2</sup>. O extrato hexânico de frutos de *X. aethiopica* apresentou forte atividade antialimentar sobre operários de cupins da espécie *Reticulitermes speratus* Kolbe<sup>11</sup>. Separações cromatográficas desse extrato resultaram no isolamento de diterpenos derivados do ácido cauranóico como princípios ativos<sup>11</sup>. Recentemente, estudos biológicos voltados para o óleo essencial desta mesma espécie revelou seu potencial inseticida contra pragas de grãos armazenados<sup>12,13</sup>.

*Xylopiá sericea* St. Hill. é uma espécie arbórea, que cresce naturalmente no Nordeste brasileiro, onde é conhecida popularmente como “embiriba”. As cascas da madeira são utilizadas na indústria caseira de cordoaria. A infusão de seus frutos é usada popularmente no tratamento de perturbações gástricas, sendo suas sementes carminativas e usadas como condimento, substituindo a pimenta do reino<sup>14</sup>. Investigação prévia dos constituintes químicos desta planta resultou no isolamento de mono e diterpenos a partir das sementes<sup>15</sup>.

Alguns estudos preliminares relacionados com a composição química do óleo essencial dessa espécie foram realizados a partir de diferentes partes do vegetal, como por ex., fruto<sup>16-18</sup>, folha<sup>18</sup>, caule<sup>18</sup> e raiz<sup>18,19</sup>. Lemos *et al.*<sup>17</sup> e Fournier *et al.*<sup>19</sup> também investigaram o potencial antimicrobiano do óleo essencial da raiz e do fruto, respectivamente.

Em geral, devido a sua alta volatilidade e possível ação fumigante, os óleos essenciais têm sido investigados quanto ao seu potencial no controle de pragas instaladas em casas de vegetação. O estudo de propriedades acaricidas do óleo essencial de *X. sericea* é particularmente importante para o controle de ácaros fitófagos, destacando-se, dentre eles, o *Tetranychus urticae* Koch, popularmente conhecido por ácaro rajado, o qual é considerado praga para inúmeras culturas economicamente importantes em todo o mundo, como o algodoeiro, feijoeiro, morangueiro, mamoeiro, tomateiro e videira<sup>20-22</sup>. Apesar da prévia investigação fitoquímica dos frutos,

\*e-mail: camara@ufrpe.br

bem como os relatos da ação antimicrobiana e da composição química do óleo essencial da espécie em estudo, que ocorre em diferentes regiões do Nordeste brasileiro, nenhum relato foi feito sobre a composição química e atividade acaricida de seu óleo essencial a partir do fruto e folha, que ocorre em Pernambuco.

Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo determinar a composição química do óleo essencial de folhas e frutos de *X. sericea*, que ocorre na floresta de restinga do litoral sul de Pernambuco, bem como seu efeito fumigante sobre o ácaro rajado, avaliado pelo modelo experimental *in vitro* de papel de filtro impregnado.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material botânico

Frutos e folhas de *X. sericea* foram coletados, no período da manhã, na área de restinga da praia de Itapuama no litoral sul de Pernambuco, Brasil, em setembro de 2005. A planta foi identificada pela Dra. M. F. de Sales, do Depto. de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e uma exsiccata do material botânico foi depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE, sob o número 48090.

### Obtenção dos óleos e análise química por CG e CG/EM

Folhas e frutos, separadamente, foram submetidos à hidrodestilação por 2 h, utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado para obtenção dos óleos. Devido à diferença de densidade, os óleos foram separados da água, secos com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e armazenados em frascos selados, sob baixa temperatura antes da análise química e de serem usados nos experimentos. Os rendimentos dos óleos foram calculados a partir do peso do material fresco. Todo o procedimento foi realizado em triplicata.

Os óleos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas utilizando cromatógrafo HP 5890B Series II, acoplado a espectrômetro de massas HP-5971, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida J & W Scientific DB5 (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ).

A análise cromatográfica (CG) foi obtida utilizando-se um aparelho Hewlett Packard 5890 Series II equipado com detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar de sílica fundida J & W Scientific DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ); as temperaturas do injetor e detector foram, respectivamente, 220 e 285 °C. Usou-se o hélio como gás de arraste, a uma vazão de 1 mL/min; o programa de temperatura da coluna foi 40 °C (1 min) até 220 °C a 4 °C/min; 220 até 280 °C a 20 °C/min. Os espectros de massas foram obtidos com um impacto eletrônico de 70 eV, 0,84 scan/sec de m/z 40 a 550. O hidrogênio foi usado como gás de arraste, com velocidade de fluxo 1,5 mL/min, modo split (1:10). Uma solução de 1,5  $\mu\text{L}$  com 10 mg de óleo em acetato de etila foi injetada. Os índices de retenção foram obtidos pela co-injeção do óleo com uma mistura de hidrocarbonetos lineares  $\text{C}_{11}$ - $\text{C}_{24}$  e calculados de acordo com a equação de van den Dool e Kratz<sup>23</sup>. Os compostos foram identificados com base na comparação dos índices de retenção calculados com os disponíveis na literatura<sup>24</sup>, seguida pela comparação do fragmentograma de padrões das massas relatados na literatura<sup>24</sup>, bem como pela comparação direta das sugestões das massas disponíveis na biblioteca do computador (Wiley, com 250.000 compostos), contemplando apenas as similaridades entre os fragmentogramas.

### Criação do ácaro

O ácaro rajado *T. urticae* utilizado para os bioensaios foi obtido da criação mantida em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes*

L.) do Laboratório de Acarologia Agrícola, do Depto. de Agronomia da UFRPE, a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , U.R.  $65 \pm 3\%$  e fotofase de 12 h.

### Teste de fumigação dos óleos essenciais

A metodologia para avaliar a ação fumigante dos óleos essenciais sobre os ácaros foi adaptada de Aslan *et al.*<sup>25</sup>. Recipientes de vidro com capacidade de 2,5 L foram usados como câmaras de fumigação. Três discos de folha de feijão-de-porco (2,5 cm) foram colocados sobre discos de papel de filtro saturados com água, dentro de placas de Petri de vidro (9 cm). Em cada disco de folha foram colocadas 10 fêmeas adultas de ácaro-rajado. Cada placa de Petri, contendo no total 30 ácaros, foi colocada no interior de um recipiente de vidro fechado. Os óleos essenciais foram aplicados, com auxílio de pipeta automática, em tiras de papéis de filtro (5 x 2 cm) presas à superfície inferior da tampa dos recipientes. As doses aplicadas foram de 5, 10, 15, 20 e 25  $\mu\text{L}$  de cada óleo essencial, o que corresponde a uma concentração de 2, 4, 6, 8 e 10  $\mu\text{L/L}$  de ar, respectivamente. Nada foi aplicado na testemunha. O período de exposição aos óleos foi de 24, 48 e 72 h. Para cada dose e tempo de exposição, 3 repetições foram feitas, sendo cada repetição um recipiente de vidro contendo uma placa de Petri com 30 ácaros.

As avaliações foram feitas ao final do período de exposição. Consideraram-se mortos os ácaros incapazes de caminhar uma distância superior ao comprimento de seu corpo após um leve toque com pincel de cerdas finas. A fecundidade foi avaliada pela contagem do número de ovos. O delineamento deste experimento foi inteiramente casualizado e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P = 0,05$ ), calculado pelo Software Sanest 3.0. O método proibitos de análise foi usado para obtenção dos valores da concentração letal média ( $\text{CL}_{50}$ ) e dos respectivos intervalos de confiança com 95% de probabilidade<sup>26</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos essenciais obtidos a partir de frutos e folhas de *X. sericea* por meio de hidrodestilação apresentaram uma coloração amarelada e rendimento de 0,22 e 0,43%, respectivamente, tendo sido identificados 24 compostos (Tabela 1).

Todos os componentes voláteis identificados foram sesquiterpenos e monoterpenos, com predominância desse último no óleo dos frutos (81,71%) e sesquiterpenos nas folhas (94,94%). Os compostos majoritários encontrados no óleo de frutos foram  $\beta$ -pineno (45,59%) e  $\alpha$ -pineno (17,18%). O óleo de folhas foi majoritariamente constituído por cubenol (57,43%), seguido por  $\alpha$ -epimurolol (26,09%).

Os resultados obtidos para o óleo essencial de *X. sericea*, que ocorre em Pernambuco, foram provenientes de uma simples amostra de um único sítio de coleta, sem levar em consideração as possíveis interações intraespecíficas. Entretanto, o óleo de folhas e frutos analisado neste trabalho apresentou um perfil químico diferente, quando comparado com aqueles relatados na literatura<sup>16-19</sup>. Essa diferença pode ser explicada pela distribuição geográfica das populações estudadas, que crescem sob influência de distintas condições de solo e clima, como também pelo horário de coleta do material a ser extraído. Por essa razão, os resultados obtidos na análise química do óleo essencial desta planta sugerem que a mesma seja um novo quimiotipo que ocorre na região Nordeste, especificamente na floresta de restinga no litoral sul de Pernambuco.

Os valores de  $\text{CL}_{50}$  calculados para os óleos essenciais do fruto e folha de *X. sericea* são mostrados na Tabela 2, com seus respectivos intervalos de confiança. A toxicidade do óleo da folha ao ácaro-

**Tabela 1.** Percentual dos componentes voláteis de folhas e frutos de *Xylopiya sericea*

Composto	I.R. <sup>a</sup>	(%)	
		folhas	frutos
$\alpha$ -Pinenol	941	0,41	17,18
Canfeno	956	0,25	-
$\beta$ -Pinenol	985	-	45,59
Mirceno	997	-	9,13
<i>o</i> -Cimeno	1028	-	1,25
<i>p</i> -Cimeno	1031	0,19	-
Silvestreno	1035	-	2,63
<i>trans</i> -Pinocarveol	1143	-	2,26
$\alpha$ -Terpineol	1190	-	1,05
Mirtenal	1192	-	1,22
Mirtenol	1196	-	1,40
Acetato de isomentila	1310	0,26	-
$\alpha$ -Cubebeno	1356	-	1,26
$\alpha$ -Copaeno	1378	-	7,47
$\alpha$ -Cedreno	1413	2,00	-
$\beta$ -Gurjuneno	1432	-	1,25
$\gamma$ -Elemeno	1434	3,26	-
Seicheleno	1455	1,36	-
Germacreno-D	1485	1,12	-
$\delta$ -Cadineno	1527	1,01	-
$\beta$ -Oplopenona	1608	2,67	-
$\beta$ -Acorenol	1637	-	2,20
$\alpha$ -Epi-Muurolol	1641	26,09	2,90
Cubenol	1647	57,43	-
Total		96,05	96,79

<sup>a</sup>Índice de retenção calculado pela co-injeção de uma série homóloga de *n*-alcanos usando uma coluna capilar apolar DB-5, 30 m.

rajado foi maior e proporcional ao tempo de exposição quando comparado com o do fruto. O óleo das folhas foi 4; 3,5 e 5 vezes mais tóxico que o óleo dos frutos no tempo de exposição de 24, 48 e 72 h, respectivamente (Tabela 2). Por outro lado, os valores da CL<sub>50</sub> obtidos para o óleo das folhas e frutos nos diferentes períodos de tempo não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade.

**Tabela 2.** Valores de (CL<sub>50</sub>) da ação fumigante do óleo essencial de folhas e frutos de *X. sericea* sobre a mortalidade de *T. urticae* em três períodos de tempo

DL <sub>50</sub> (µL/L de ar) (Intervalo de confiança de 95%)		
Folhas		
24 h	48 h	72 h
<b>6,51</b>	<b>6,40</b>	<b>4,08</b>
(4,45-10,11)	(5,83-7,01)	(1,50-6,09)
Frutos		
<b>27,16</b>	<b>22,84</b>	<b>20,60</b>
(22,98-32,98)	(19,63-26,99)	(17,67-24,39)

Os óleos testados, também interferiram na fecundidade de *T. urticae*, cujos resultados são mostrados na Tabela 3. As menores quantidades médias de ovos colocados pelos ácaros-fêmeas foram observadas quando submetidos aos vapores dos óleos das folhas (12,3 ovos) e frutos (21,0 ovos) no período de 24 h.

Os monoterpenos são compostos provenientes do metabolismo secundário vegetal, que podem causar interferência tóxica nas fun-

**Tabela 3.** Ação fumigante do óleo essencial de folhas e frutos de *X. sericea* sobre a fecundidade (Média ± EP<sup>1</sup>) de *T. urticae* em cinco concentrações e três períodos de tempo

Concentração (µL/L de ar)	Fecundidade <sup>2</sup> (ovos/repetição)		
	Frutos		
	24 h	48 h	72 h
0	217,6 ± 2,96 aA	277,6 ± 8,88 aB	313,3 ± 8,42 aC
2	192,6 ± 6,17 bB	121,0 ± 2,0 bC	301,6 ± 8,84 aA
4	118,0 ± 4,16 cB	114,3 ± 1,66 bcB	220,0 ± 1,52 bA
6	67,6 ± 5,24 dC	100,6 ± 1,76 cdB	203,3 ± 3,38 bcA
8	35,3 ± 2,40 eC	87,3 ± 1,45 deB	179,6 ± 1,45 cA
10	21,0 ± 1,73 eC	70,0 ± 3,46 eB	125,0 ± 5,57 dA

  

Concentração (µL/L de ar)	Folhas		
	Folhas		
	24 h	48 h	72 h
0	302,0 ± 9,65 aA	332,3 ± 9,35 aB	324,6 ± 27,86 aB
2	19,6 ± 0,87 bC	288,6 ± 11,98 aA	239,0 ± 6,24 bB
4	14,0 ± 1,0 bB	171,0 ± 11,54 bA	180,6 ± 3,38 bcA
6	11,0 ± 0,57 bB	181,0 ± 11,60 bA	181,3 ± 7,69 bcA
8	13,6 ± 1,20 bC	173,0 ± 2,30 bB	195,6 ± 4,48 bcA
10	12,3 ± 1,20 bB	177,3 ± 2,72 bA	157,6 ± 12,15 cA

<sup>1</sup>EP = Erro padrão; <sup>2</sup>médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha e minúscula na mesma coluna, para cada óleo, não diferem entre si pelo teste de Tukey (*P* = 0,05).

ções bioquímicas e fisiológicas em herbívoros<sup>27</sup>. A ação de monoterpenos sobre artrópodes tem sido previamente relatada, sugerindo vários modos de ação, como por ex., inibidor da acetilcolinesterase e do citocromo P450 monooxigenase dependente ou atuando no sistema nervoso octopaminérgico do artrópode<sup>28</sup>.

A análise dos constituintes do óleo essencial de folhas e frutos de *X. aromatica* revelou a presença de componentes reconhecidamente inseticidas, como  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -terpineno e limoneno<sup>20</sup>. Em outra investigação, foi atribuída à mistura dos monoterpenos  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno como sendo os componentes ativos do líquido exsudado de uma espécie do gênero *Stylosanthes* contra as larvas do carrapato-do-boi *Boophilus microplus* (Canestrini)<sup>29</sup>. Apesar dos monoterpenos  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno juntos somarem mais de 62% do óleo dos frutos de *X. sericea*, foi o óleo das folhas que se revelou mais ativo contra *T. urticae*, com valor da CL<sub>50</sub> de 4,08 µL/L de ar em 72 h, cujos componentes principais identificados foram os sesquiterpenos oxigenados cubenol (57,43%) e  $\alpha$ -epi-muurolol (26,09%). Esse resultado sugere que ácaros e insetos pragas respondem de forma diferente quando submetidos aos componentes químicos de um óleo essencial, ou seja, enquanto que o óleo do fruto constituído com mais de 62% de  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno revelou menor toxicidade ao ácaro-rajado, com valor da LC<sub>50</sub> de 20,60 µL/L de ar em 72 h, o óleo de *Thymus vulgaris* constituído majoritariamente por timol (48,2%),  $\alpha$ -pineno (8,4%) e  $\beta$ -pineno (4,3%) apresentou forte ação fumigante contra a mosca do cogumelo solani (*Lycoriella mali*) e, com base nos valores da CL<sub>50</sub>, os monoterpenos  $\alpha$ -pineno (9,85 µg/mL) e  $\beta$ -pineno (11,85 µg/mL) foram os responsáveis pela toxicidade<sup>30</sup>. Por outro lado, não se deve excluir o possível efeito sinérgico de outros constituintes presentes no óleo do fruto, que mesmo em pequenas quantidades podem ter mascarado a reconhecida atividade acaricida de ambos os monoterpenos bicíclicos descritos anteriormente por Sutherst *et al.*<sup>29</sup> e Choi *et al.*<sup>30</sup>.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão de bolsa de mestrado para W. J. T. Pontes, e ao CNPq, pela bolsa de Iniciação Científica e suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

1. Viegas Júnior, C.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 390.
2. Hernández, C. R.; *Plantas contra Plagas – potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco*, RAPAM: Estado de México, 2001.
3. Moreira, I. C.; Lago, J. H. G.; Roque, N. F.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2005**, *33*, 948.
4. Nishiyama, Y.; Moriyasu, M.; Ichimaru, M.; Iwasa, K.; Kato, A.; Mathenge, S. G.; Mutiso, P. B. C.; Juma, F. D.; *Phytochemistry* **2004**, *65*, 939.
5. De-Andrade, N. C.; Barbosa-Filho, J. M.; Da-Silva, M. S.; Da-Cunha, E. V. L.; Maia, J. G. S.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2004**, *32*, 1055.
6. Stashenko, E. E.; Jaramillo, B. E.; Martínéz, J. R.; *J. Chromatogr. A* **2004**, *1025*, 105.
7. Tatsadjieu, L. N.; Essia-Ngang, J. J.; Ngassoum, M. B.; Etoa, F. X.; *Fitoterapia* **2003**, *74*, 469.
8. Konning, G. H.; Agyane, C.; Ennison, B.; *Fitoterapia* **2004**, *75*, 65.
9. Asekun, O. T.; Kunle, O.; *J. Essent. Oil-Bearing Plant.* **2004**, *7*, 186.
10. Alexander, I. C.; Pascoe, O. K.; Marchand, P.; Williams, L. A. D.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1801.
11. Lajide, L.; Escoubas, P.; Mizutani, J.; *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1105.
12. Okonkwo, E. U.; Okoye, W. I. I.; *J. Pest. Manag.* **1996**, *42*, 143.
13. Ngamo, L. S. T.; Ngassoum, M-B.; Jirovetz, L.; Ousman, A.; Nukenine, E. C.; Mukala, O. E.; *Mededelingen – Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen*, **2001**, *66*, 473.
14. Corrêa, M. P.; *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, 1987, vol. 5.
15. Takahashi, J. A.; Henrieta, S. V.; Boaventura, M. A. D.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 616.
16. Craveiro, A. A.; Alencar, J. W.; Nostrowsy, O.; *J. Nat. Prod.* **1986**, *49*, 1146.
17. Lemos, T. L. G.; Monte, F. J. Q.; Matos, F. J. A.; Alencar, J. W.; Craveiro, A. A.; Barbosa, R. C. S. B.; Lima, E. O.; *Fitoterapia* **1992**, *63*, 266.
18. Camara, C. A. G.; Alencar, J. W.; Silveira, E. R.; *J. Essent. Oil Res.* **1996**, *8*, 75.
19. Fournier, G.; Hadjiakhoondi, A.; Leboeuf, M.; Cave, A.; Charles, B.; Fourniat, J.; *Phytotherapy Res.* **1994**, *8*, 166.
20. Potenza, M. R.; Takematsu, A. P.; Sivieri, A. P.; Sato, M. E.; Passerotti, C. M.; *Arq. Inst. Biol.* **1999a**, *66*, 31.
21. Potenza, M. R.; Takematsu, A. P.; Benedicto, L. H.; *Arq. Inst. Biol.* **1999b**, *66*, 91.
22. Robinson-Vargas, M.; Chapman, B.; Pearman, D. R.; *Agric. Tec.* **2001**, *61*, 3.
23. van den Dool, H.; Kratz, P. H.; *J. Chromatogr. A* **1963**, *11*, 463.
24. Adams, R. P.; *Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*, Allured Publ. Corp.: Carol Stream, 1995.
25. Aslan, I.; Özbek, H.; Çalmasur, Ö.; Sahin, F.; *Ind. Crop Prod.* **2004**, *19*, 167.
26. Finney, D. J.; *Probit Analysis, A statistical Treatment of the Sigmoid Response Curve*, University Press: Cambridge, 1974.
27. Dunkel, F. V.; Sears, L. J.; *J. Stor. Prod. Res.* **1998**, *34*, 307.
28. De-Oliveira, A. C.; Ribeiro-Pinto, L. F.; Paumgarten, J. R.; *Toxicol. Lett.* **1997**, *92*, 39; Enam, E. E.; *Annual Meeting of the Entomological Society of America*, San Diego, USA, 2001; Ryan, M. F.; Byrne, O.; *J. Chem. Ecol.* **1988**, *14*, 1965.
29. Sutherst, R. W.; Jones, R. J.; Schnitzlerling, H. J.; *Nature* **1982**, *295*, 320.
30. Choi, W. S.; Park, B. S.; Lee, Y. H.; Jang, D. Y.; Yoon, H. Y.; Lee, S. E.; *Crop Prot.* **2006**, *25*, 398.