

PAULA TATIANA LOPES SEIXAS

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DE *Artemisia* SUBMETIDAS A DIFERENTES
ADUBAÇÕES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

S462c
2017

Seixas, Paula Tatiana Lopes, 1980-

Composição química e atividade inseticida de óleos
essenciais de espécies de *Artemisia* submetidas a diferentes
adubações / Paula Tatiana Lopes Seixas. – Viçosa, MG, 2017.
viii, 88f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Antônio Jacinto Demuner.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Adubos e fertilizantes orgânicos. 2. *Artemisia*.
3. Essências e óleos essenciais. 4. Inseticidas. 5. Plantas -
Composição. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Química. Programa de Pós-graduação em Agroquímica.
II. Título.

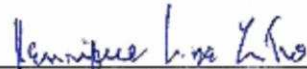
CDD 22 ed. 631.86


PAULA TATIANA LOPES SEIXAS

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DE *Artemisia* SUBMETIDAS A DIFERENTES
ADUBAÇÕES


Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do título de
Doctor Scientiae.


APROVADA: 16 de janeiro de 2017.


Henrique Guilhon de Castro


Antônio Lélis Pinheiro


Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Coorientador)


Marcelo Coutinho Picanço
(Coorientador)


Antônio Jacinto Demuner
(Orientador)

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. CAPÍTULO 1	10
<i>EFEITO DA FERTILIZAÇÃO MINERAL NA BIOMASSA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CINCO ESPÉCIES DE Artemisia EM CASA DE VEGETAÇÃO</i>	
<i>Resumo</i>	10
2.1. INTRODUÇÃO.....	11
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
2.2.1. <i>Obtenção, preparo das mudas e plantio</i>	13
2.2.2. <i>Delineamento experimental</i>	14
2.2.3. <i>Variáveis analisadas</i>	16
2.2.4. <i>Extração do óleo essencial</i>	16
2.2.5. <i>Análise qualitativa dos constituintes químicos por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM)</i>	17
2.2.6. <i>Análise quantitativa dos constituintes dos óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chamas (CG-FID)</i>	17
2.2.7. <i>Análise estatística</i>	18
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
2.3.1. <i>Características botânico-agronômicas</i>	18
2.3.2. <i>Teor de óleo essencial</i>	23
2.3.3. <i>Identificação dos constituintes químicos</i>	25
2.5. REFERÊNCIAS	45
3. CAPÍTULO 2	51
<i>TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CINCO ESPÉCIES DE Artemisia CONTRA Diaphania hyalinata E SUA SELETIVIDADE A INSETOS BENÉFICOS</i>	
<i>Resumo</i>	51
3.1. INTRODUÇÃO.....	52
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	53
3.2.1. <i>Teor e composição do óleo essencial</i>	53

3.2.2. Compostos puros	54
3.2.3. Bioensaios.....	55
3.2.3.1. Bioensaio de seleção do óleo essencial mais tóxico a praga.....	55
3.2.3.2. Bioensaio de estudo da potência de controle do óleo essencial selecionado.....	56
3.2.3.3. Bioensaio de determinação de velocidade de controle da praga pelo óleo essencial selecionado	57
3.2.3.4. Bioensaio de determinação dos compostos que são responsáveis pela ação tóxica do óleo sobre a praga	57
3.2.3.5. Seletividade do óleo selecionado a insetos benéficos	58
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
3.3.1. Óleo essencial.....	58
3.3.2. Bioensaio de seleção dos óleos essenciais com efeito inseticida sobre <i>D. hyalinata</i>	59
3.3.3. Potência de controle de <i>D. hyalinata</i>	60
3.3.4. Velocidade de ação do óleo essencial de <i>A. annua</i>	61
3.3.5. Efeito sinérgico dos compostos do óleo essencial de <i>A. annua</i>	62
3.3.6. Seletividade para os organismos benéficos	63
3.4. CONCLUSÃO	65
3.5. REFERÊNCIAS	66
4. CAPÍTULO 3	70
<i>TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CINCO ESPÉCIES DE Artemisia A LARVAS DE Aedes aegypti L.</i>	70
<i>Resumo</i>	70
4.1. INTRODUÇÃO.....	71
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	73
4.2.1. Composição do óleo essencial.....	73
4.2.2. Compostos puros	74
4.2.3. Larvas	74
4.2.4. Bioensaios.....	74
4.2.4.1. Seleção do óleo essencial com maior efeito larvicida	74
4.2.4.2. Determinação da curva concentração-mortalidade do óleo com maior atividade larvicida.....	75

4.2.4.3 Sinergismo	75
4.2.5. Análises estatísticas.....	76
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
4.3.1. Composição do óleo essencial.....	76
4.3.2. Atividade larvicida do óleo essencial.....	77
4.3.3. Sinergismo	80
4.4. CONCLUSÃO	81
4.5. REFERÊNCIAS	82
APÊNDICE	84

RESUMO

SEIXAS, Paula Tatiana Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2017. **Composição química e atividade inseticida de óleos essenciais de espécies de *Artemisia* submetidas a diferentes adubações.** Orientador: Antônio Jacinto Demuner. Coorientadores: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Marcelo Coutinho Picanço.

As espécies de *Artemisia* são aromáticas e apresentam aplicações nas indústrias farmacêuticas, alimentícias, de cosméticos e perfumaria. Neste contexto, é importante a descoberta de novos usos destas plantas como também a otimização do seu processo de cultivo. Assim, este trabalho teve os objetivos de determinar o efeito de fertilizantes sobre o desempenho de cinco espécies de *Artemisia* e o efeito inseticida de seus óleos essenciais. As espécies de *Artemisia* estudadas foram *A. annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculus* e *A. vulgaris*. O trabalho foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa foi determinado o efeito de doses de adubação no desempenho das plantas cultivadas em casa de vegetação com quatro doses de N-P-K (D0 = 0, D1 = 50, D2 = 100 e D3 = 150%). Foram realizadas colheitas, com 60 e 125 dias após o transplante (DAT). Posteriormente, foi feita avaliação dos parâmetros altura das plantas, diâmetro do caule, massa seca das folhas, massa fresca das folhas, rendimento e composição química do óleo essencial. Na segunda época de colheita, aos 125 DAT, foi observada uma tendência de redução da massa fresca e da massa seca das folhas na dose D3 em relação à dose D2. Além disso, as espécies *A. camphorata* (2,27%) e *A. dracunculus* (1,84%) tiveram maior rendimento de óleo essencial quando cultivadas em solos com adição de fertilizantes na dose D1 aos 125 DAT. As cinco espécies de *Artemisia* apresentaram constituintes químicos diferentes, destacando os majoritários: cânfora, germacreno D e 1,8-cineol (*A. annua*); Z-isocitral, β -pineno e mirceno (*A. absinthium*); metileugenol e β -pineno (*A. dracunculus*); germacreno D-4-ol, borneol e ascaridol (*A. camphorata*) e *trans*-tujona e 1,8-cineol (*A. vulgaris*). Na segunda etapa foi realizado o efeito inseticida dos óleos essenciais das cinco espécies de *Artemisia* a praga de cucurbitáceas *Diaphania hyalinata*, a sua seletividade a formiga predadora

Solenopisis saevissima, a abelha *Tetragonisca angustula* e a ação sobre as larvas de *Aedes aegypti*. O óleo essencial de *A. annua* teve alta ação inseticida sobre as larvas de *D. hyalinata* (mortalidade > 96%) e foi seletivo ao predador *S. saevissima* (44%) e a abelha *T. angustula* (38%). A mistura de cânfora + 1,8-cineol foi responsável pela ação inseticida do óleo essencial de *A. annua* sobre *D. hyalinata*. O óleo essencial de *A. camphorata* teve boa atividade larvicida (mortalidade > 80%) sobre *A. aegypti*. Portanto, os óleos essenciais de *A. annua* tem potencial de uso contra *D. hyalinata* enquanto o óleo de *A. camphorata* é promissor no controle de larvas de *A. aegypti*.

ABSTRACT

SEIXAS, Paula Tatiana Lopes, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, January, 2017. **Chemical composition and insecticidal activity of essential oils of *Artemisia* species submitted to different fertilizations.** Adviser: Antônio Jacinto Demuner. Co-advisers: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa and Marcelo Coutinho Picanço

Artemisia species are aromatic and have applications in the pharmaceutical, food, cosmetics and perfumery industries. In this context, it is important to discover new uses of these plants as well as the optimization of their cultivation process. Thus, this work had the objectives of determining the effect of fertilizers on the performance of five species of *Artemisia* and the insecticidal effect of their essential oils. The species of *Artemisia* studied were *A. annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculus* and *A. vulgaris*. The work was divided into two stages. In the first stage, the effect of fertilization doses on the performance of plants cultivated in greenhouse with four doses of N-P-K (D0 = 0, D1 = 50, D2 = 100 and D3 = 150%) was determined. Harvests were performed at 60 and 125 days after transplantation (DAT). Afterwards, the plant height, stem diameter, leaf dry mass, fresh leaf mass, yield and chemical composition of the essential oil were evaluated. In the second harvest season, at 125 DAT, a trend of reduction of fresh mass and leaf dry mass was observed at D3 dose in relation to dose D2. In addition, *A. camphorata* (2.27%) and *A. dracunculus* (1.84%) had a higher yield of essential oil when cultivated on soil with fertilizer addition at D1 dose at 125 DAT. The five species of *Artemisia* presented different chemical constituents, highlighting the majorities: camphor, germacrene D and 1,8-cineol (*A. annua*); Z-isocitral, β -pinene and myrcene (*A. absinthium*); Methyleugenol and β -pinene (*A. dracunculus*); Germacrene D-4-ol, borneol and ascaridol (*A. camphorata*) and *trans*-tujone and 1,8-cineol (*A. vulgaris*). In the second stage the work was divided into two parts. In the first part we studied the insecticidal effect of the essential oils of the five species of *Artemisia*, the pest of cucurbitaceae *Diaphania hyalinata* and its selectivity the predatory ant *Solenopsis saevissima* and the bee *Tetragonisca angustula*. In the second part the larvicidal action of the essential oils was studied to the

mosquito *Aedes aegypti*. The *A. annua* essential oil had high insecticidal action on *D. hyalinata* larvae (mortality >96%) and was selective to the predator *S. saevissima* (44%) and the bee *T. angustula* (38%). The camphor + 1,8-cineol mixture was responsible for the insecticidal action of the *A. annua* essential oil on *D. hyalinata*. The essential oil of *A. camphorata* had good larvicidal activity (mortality >80%) on *A. aegypti*. Therefore, *A. annua* essential oils have potential use against *D. hyalinata* while *A. camphorata* oil is promising in the control of *A. aegypti* larvae.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A família Asteraceae é uma das maiores famílias de plantas de ocorrência mundial. Compreende cerca de 25.000 espécies (Simpson *et al.*, 2009), sendo constituídos de ervas, arbustos, trepadeiras e raramente árvores, representando cerca de 10% das espécies vegetais do planeta. É uma família de grande importância do ponto de vista econômico, incluindo plantas comestíveis e ornamentais (Funk *et al.*, 2009).

O gênero *Artemisia* (Asteraceae) compreende mais de 500 espécies basicamente perenes e uma distribuição mundialmente variada. Muitas espécies desse gênero são úteis em diferentes campos: alimentos (*A. absinthium* L., *A. dracunculus* L., *A. genipi* G.), medicina (*A. annua* L. e *A. camphorata* L.), forragem (*A. herba-alba* Asso, *A. tridentata* Nutt.) e ornamentais (*A. arborescens* L. e *A. vulgaris* L.) (Pellicer *et al.*, 2010). No Brasil, encontramos espécies de *Artemisia* adaptadas ao clima e amplamente distribuídas. Neste trabalho destacamos a importância de cinco espécies com usos variados.

- ✓ A *A. annua* L. é nativa da China e utilizada há 2.000 anos como planta medicinal contra febre e problemas digestivos. Em 1980, um artigo foi publicado mostrando a eficiência da artemisinina no tratamento da malária. Atualmente, a artemisinina e seus derivados são as drogas antimaláricas mais utilizadas (Simpson *et al.*, 2009).
- ✓ A *A. absinthium* possui propriedades carminativas (antiflatulência), diurética, colagoga (ação sobre a secreção biliar), emenagoga (promoção ou reestabelecimento da menstruação) e helminticida (Lorenzi & Matos, 2002).
- ✓ A *A. camphorata* é amplamente utilizada na medicina tradicional para o tratamento da diabetes, bronquite, diarreia, hipertensão e neuralgias. Seu óleo essencial é conhecido por sua ação desinfetante, terapêutica, anti-helmíntica e antiespasmódica (Mighri *et al.*, 2010).
- ✓ As folhas de *A. dracunculus* são aromáticas e usadas como condimento em saladas e na preparação de vinagre de estragão. Além do uso culinário, possui atividade inseticida, antifúngica e antitumoral. Na medicina tradicional iraniana, as partes aéreas secas desta planta são usadas por via oral para tratar a epilepsia (Sayyah *et al.*, 2004).

- ✓ *A. vulgaris* L. é popularmente conhecida por seus efeitos analgésicos, antiespasmódicos e anticonvulsivos, sendo empregada também para dispepsias (má digestão), astenias (ausência ou perda de força muscular), epilepsias, dores reumáticas, febres e anemias (Lee *et al.*, 1998).

O uso de plantas medicinais nativas e exóticas tem contribuído para o aumento da exploração dessas plantas, ocasionando uma redução drástica de suas populações naturais (Yadav *et al.*, 2014). Assim, a domesticação e o cultivo de plantas medicinais surgem como opção para obtenção da matéria-prima e da redução do extrativismo.

A nutrição desempenha um papel chave no crescimento e desenvolvimento de todas as plantas cultiváveis. No caso de espécies medicinais, que sintetizam óleos essenciais, os nutrientes podem aumentar a produção e melhorar a qualidade de óleo (Corrêa *et al.*, 2010; Rodrigues *et al.*, 2014; El Gendy *et al.*, 2015).

O estudo das espécies medicinais tem comprovado a produção de metabólitos secundários de importância química com diversas aplicações. Isso ocorre devido aos processos evolutivos que envolvem os mecanismos de proteção contra predadores (herbívoros ou patógenos) da fauna tropical e, inclusive, mecanismos de atração (visando à polinização ou a dispersão de sementes) envolvendo mutualismos nesses ecossistemas (Barros; Mallmann; Heinzmann, 2009).

Muitas espécies vegetais produzem compostos ativos quando submetidas a condições de estresse, como por exemplo, carência ou excesso de nutrientes no solo. Essas condições tornam o plantio de espécies medicinais um grande desafio para obtenção de um padrão de qualidade (Carvalho *et al.*, 2005; Martins *et al.*, 2006; Martins *et al.*, 2007; Pegoraro *et al.*, 2010).

O óleo essencial das espécies de *Artemisia* é constituído principalmente de ascaridol, mirceno, metileugenol, gremacreno D-4-ol, gremacreno D, 1,8-cineol, tujona, β -pineno, Z-isocitral e cânfora, cujas estruturas químicas estão representadas na **Figura 1.1** (Briside *et al.*, 2012).

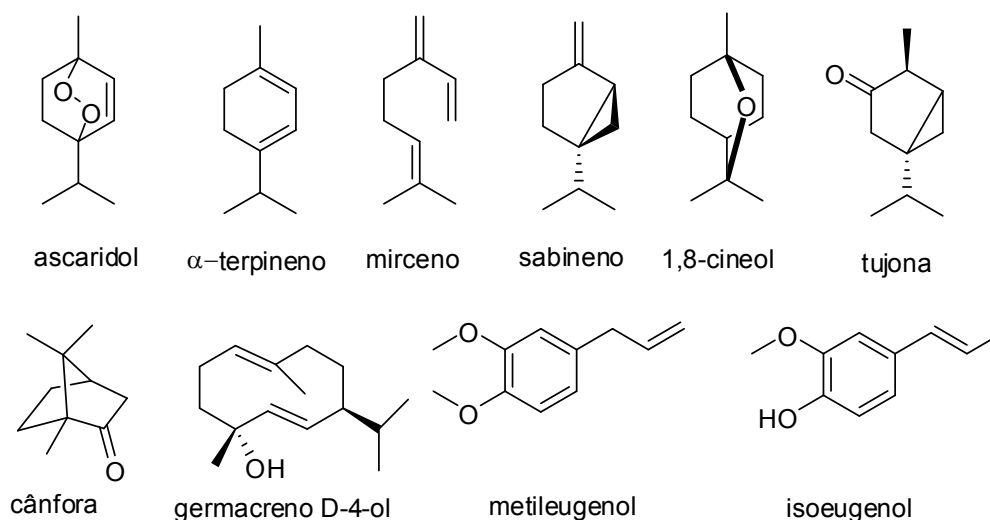


Figura 1.1. Estruturas químicas dos principais constituintes presentes em óleos essenciais de *Artemisia*.

Em geral, as espécies apresentam épocas específicas em que contêm maior quantidade de princípios ativos no seu tecido, podendo esta variação ocorrer tanto no período de um dia, como em diferentes épocas do ano (Babosa *et al.*, 2007). Portanto, a padronização do manejo agrônomo é importante para obtenção de um produto de qualidade, uma vez que a variação na concentração dos constituintes de interesse do óleo essencial pode resultar em efeito insatisfatório. Além disso, os processos de colheita, secagem e armazenamento favorecem a degradação enzimática, que leva a deterioração dos princípios ativos (Simões & Spitzer, 2003, Barbosa *et al.*, 2006, Rocha *et al.*, 2012, Rocha *et al.*, 2014).

A ação inseticida de espécies da família Asteraceae tem sido relatada com destaque para as espécies do gênero *Artemisia* (Macedo *et al.*, 1997, Kordali *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2008).

A ocorrência de pragas reduz significativamente a produtividade das culturas, em especial de olerícolas, em que os danos são causados direto e indiretamente pela broca da lagarta *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae), podendo comprometer até 100% da produção com ataques em toda as partes da planta. As lagartas são esverdeadas, apresentam duas linhas brancas paralelas na região dorsal e se alimentam principalmente das folhas, reduzindo, assim, a área fotossintética da planta. Os adultos são mariposas de coloração marrom que possuem asas semitransparentes com faixa retilínea

escura nos bordos e área central branca (**Figura 1.2**) (Antônio *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2015). Neste contexto, o uso de produtos alternativos como óleo essencial é de importância para o controle biológico.



Figura 1.2. Lagarta e mariposa (*Diaphania hyalinata*)

Fonte: http://entomologreuni.blogspot.com.br/2011_11_01_archive.html

Outra praga mundial é o mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), que pode transmitir várias doenças como a dengue, febre amarela, zika vírus e chikungunya. Como ainda não foram desenvolvidos medicamentos para tratamento e nenhuma vacina eficaz para uso humano, o controle da dengue se baseia, principalmente, em aplicações de inseticidas (Who, 2015). Dessa forma, o uso continuado de inseticida fez surgir populações resistentes de *A. aegypti*, dificultando o êxito dos programas de controle.

Assim, é importante a busca por novos produtos de recursos naturais de forma sustentável. O cultivo das espécies de interesse em solos adubados é uma alternativa que permite a realização de estudos que utilizem óleos essenciais com efeito biológico em diversos insetos, além de contribuir para preservação da flora natural da região.

Assim, neste trabalho foi relatada a influência de diferentes doses de adubação na produção de biomassa, rendimento e composição do óleo essencial das cinco espécies de *Artemisia* (*Artemisia annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracuncululus* e *A. vulgaris*) cultivadas em casa de vegetação. Além disso, foi avaliada a composição química e o teor dos constituintes do óleo essencial em dois intervalos de colheita (**Capítulo 1**).

Uma segunda etapa envolveu ensaios de atividade inseticida dos óleos essenciais das cinco espécies de *Artemisia* e foi verificada que a dose de adubação D2 proporcionou melhor rendimento. Dessa forma, foram realizados os ensaios biológicos de atividade inseticida do óleo essencial das cinco

espécies de *Artemisia* no controle de *Diaphania hyalinata* (lagarta), *Solenopsis saevissima* (formiga), *Tetragonisca angustula* (abelha) e *Aedes aegypti* (vetor de transmissão da dengue) (**Capítulo 2 e 3**).

REFERÊNCIAS

- Antônio, A.C., Picanço, M.C., Gonring, A.H.R., Semeão, A.A., Gontijo, L.M., Sobrinho, T.G. Oviposição de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Pyralidae) afetada pela face foliar e tricomas. *Acta Scientiarum*. **2002**, v. 24, p.359-362.
- Barbosa, F.F., Barbosa, L.C.A., Melo, E.C., Botelho, F.M., Santos, R.H.S. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. *Química Nova*, **2006**, v.29, p.1221-1225.
- Barbosa, L.C.A., Demuner, A.J., Clemente, A.D., Paula, V.F., Ismail, F.M.D. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* raddi. *Química Nova*, **2007**. v.30, p.1959-1965.
- Barros, F. M. C., Mallmann, C.A., Heinzmann, B.M. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **2009**, v.32, p.861–867.
- Briside, E.A., Udensi, O., Chukwurah, P.N., Magalhães, P.M., Mara, G., Ferreira, J.F.S., Adaptation and agronomic performance of *Artemisia annua* L . under lowland humid tropical conditions. *Industrial Crops and Products*. **2012**, v. 39, p.190–197.
- Carvalho, L.M., Casali, V.W.D., Souza, M.A., Barbosa, L.C.A., Cecon, P.R. Crescimento, teor de partenólídeo e de prolina em plantas de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz crescidas e, pelo substrato com diferentes teores de umidade. *Acta Scientiarum Ciências Biológicas*. **2005**, v.27, p.151-157.
- Corrêa, R.M., Pinto, J.E.B.P., Reis, E.S., Costa, L.C.B., Alves, P.B., Niculan, E.S., Brant, R.S. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. **2010**, v.12, p.80–89.

- El Gendy, A.D., El Gohary, A.E., Omer, A.E., Hendawy, S.F., Hussein, M.S., Petrova, V., Stancheva, I. Effect of nitrogen and potassium fertilizer on herbage and oil yield of chervil plant (*Anthriscus cerefolium* L.). *Industrial Crops and Products*. **2015**, v.69, p.167–174.
- Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T., Bayer, R. *Systematics Evolution and Biogeography of the Compositae*. IAPT, Washington, **2009**.
- Kordali, S., Aslan, I., Çalmasur, O., Cakir, A. Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*. **2006**, v.23, p.162-170.
- Lee, S., Chung, H., Maier, C., Wood, A., Dixon, R., Mabry, T. Estrogenic flavonoids from *Artemisia vulgaris* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **1998**, v.46, p.3325–3329.
- Lorenzi, H., Matos, F.J.A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, Brasil. **2002**.
- Macedo, M.E., Consoli, R.A.G.B., Grandi, T.S.M., Anjos, A.M.G., Oliveira, A.B., Mendes, N.M., Queiróz, R.O., Zani, C.L. Screening of Asteraceae (Compositae) plant extract for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera:Culicidae). *Memorial do Instituto Oswaldo Cruz*. **1997**, v.92, n.4, p.565-570.
- Martins, F.T., Santos, M.H., Polo, M. Variação química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., sob condições de cultivo. *Química Nova*, **2006**, v.29, p.1203–1209.
- Martins, F.T., Santos, M.H., Polo, M., Barbosa, L.C.A. Effects of the interactions among macronutrients, plant age and photoperiod in the composition of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit essential oil from Alfenas (MG), Brazil. *Flavour and Fragrance Journal*. **2007**. v.22, p.123–129.
- Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrou, A., Najjaa, N., Neffati, M., Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*. **2010**, v.13, p.380–386.
- Pegoraro, R.L., Falkenberg, M.B., Voltolini, C.H., Santos, M., Paulilo, M.T.S. *Produção de óleos essenciais em plantas de Mentha x piperita* L. var.

- piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição do substrato. *Revista Brasileira de Botânica*. **2010**, v.33, p.631–637.
- Rocha, R.P., Melo, E.C., Barbosa, L.C.A., Corbín, J.B., Berbet, P.A. Influência do processo de secagem sobre os principais componentes químicos do óleo essencial de tomilho. *Revista Ceres*. **2012**, v.59, p.731–737.
- Rocha, R.P., Melo, E.C., Barbosa, L.C.A., Santos, R.H.S., Cecon, P.R., Dallacort, R., Santi, A. Influence of plant age on the content and composition of essential oil of *Cymbopogon citratus*. *Journal of Medicinal Plant Research*. **2014**, v. 8, p.1121–1126.
- Rodrigues, D.S., Camargo, M.S., Nomura, E.S., Garcia, V.A., Correa, J.N., Vidal, T.C.M. Influência da adubação com nitrogênio e fósforo na produção de Jambu, *Acmella oleracea* (L) R.K. *Jansen*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. **2014**, v.16, n.1, p. 71–76.
- Sayyah, M., Nadjafnia, L., Kamalinejad, M. Anticonvulsant activity and chemical composition of *Artemisia dracuncululus* L. essential oil. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, v.94, p. 283–287.
- Silva, R. S., R.S., Tomaz, A.C., Lopes, M.C., Martins, J.C., Xavier, V.M., Picanço, M.C. Toxicity of botanical insecticides on *Diaphania hyalinata*, their selectivity for the predatory ant *Paratrechina* sp., and their potential phytotoxicity on pumpkin. *International Journal of Pest Management*. **2015**, v.61, p.1-10.
- Simões, C.M.O., Spitzer, V. Óleos voláteis. In: Simões, C.M.O. *et al.* *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5. ed, Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC. **2003**, p.467-495.
- Simpson, B.B., Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T.F., Bayer, R.J. Economic importance of Compositae. In *Compositae*, Vienna: International Association for Plant Taxonomy. **2009**.
- World Health Organization (WHO). (2015) Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides.
- Yadav, R.K. Plant Physiology and Biochemistry Effect of prolonged water stress on specialized secondary metabolites, peltate glandular trichomes, and pathway gene expression in. *Plant Physiology et Biochemistry*. **2014**, v.74, p.70–83.

Zhang, Y.Q., Ding, W., Zhao, Z.M., Wu, J., Fan, Y.H. Studies on Acaricidal Bioactivities of *Artemisia annua* L. Extracts against *Tetranychus cinnabarinus* Bois (Acari: Tetranychidae). *Agricultural Sciences in China*. **2008**, v.7, p.577-584.

2. CAPÍTULO 1

EFEITO DA FERTILIZAÇÃO MINERAL NA BIOMASSA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CINCO ESPÉCIES DE *Artemisia* EM CASA DE VEGETAÇÃO

RESUMO

Devido à carência de informações sobre adubação de espécies medicinais, em especial de *Artemisia annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculoides* e *A. vulgaris*, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adubação mineral (fertilizantes químicos) na biomassa e rendimento do óleo essencial das espécies supracitadas, cultivadas em casa de vegetação. O delineamento

experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (5x4), sendo cinco espécies de *Artemisia* e quatro doses de adubação (NPK). Após 60 dias após o transplante (DAT) das mudas foi realizada a primeira colheita e com 125 DAT a segunda colheita avaliando altura, diâmetro do caule, massa fresca das folhas, massa seca das folhas e o rendimento do óleo essencial. A espécie de *A. annua* apresentou maior altura (159 cm) em comparação às demais espécies nas duas épocas de colheita (60 e 125 DAT). O diâmetro da espécie *A. absinthium* (D2) destacou-se das demais espécies. E os maiores valores de biomassa fresca e seca foram das espécies *A. dracunculus* e *A. vulgaris* aos 125 DAT, respectivamente, 307 e 435 g planta⁻¹. Os teores dos óleos essenciais das espécies de *Artemisia* estudadas variaram de 0,08% a 2,27%, nas duas épocas de colheita. As espécies que apresentaram maiores teores de óleo aos 125 DAT foram *A. camphorata* (2,27%) e *A. dracunculus* (1,84%) ambas com a dose D1. A constituição química entre as espécies foi diversificada, destacando os majoritários: cânfora, germacreno D e 1,8-cineol (*A. annua*); Z-isocitral, β -pineno e mirceno (*A. absinthium*); metileugenol e β -pineno (*A. dracunculus*); germacreno D-4-ol, borneol e ascaridol (*A. camphorata*) e *trans*-tujona e 1,8-cineol (*A. vulgaris*).

Palavras-chave: plantas medicinais, fertilização mineral, óleo essencial, *Artemisia*.

2.1. INTRODUÇÃO

Um dos gêneros importantes da família Asteraceae é a *Artemisia*, com 800 espécies distribuídas em todo o mundo. O gênero *Artemisia* é industrialmente importante devido à suas propriedades antifúngica, inseticida, alelopática, antibacteriana, além de outras atividades biológicas (Ahmad *et al.*, 2009; Chauhan *et al.*, 2010; Lutz *et al.*, 2008).

Dentre as espécies do gênero *Artemisia* destacam-se: *Artemisia annua* L. uma planta anual e mundialmente conhecida como produtora de artemisinina, um sesquiterpeno com propriedade antimalárica (Phillipson, 2001; Balunas & Kinghorn, 2005; Cavar *et al.*, 2012; Herrmann *et al.*, 2013); *Artemisia absinthium* L. uma planta perene, aromática e medicinal de interesse etnofarmacológico (Bailen *et al.*, 2013); *Artemisia camphorata* Vill que é uma planta perene com propriedades estomacais (Pellicer *et al.*, 2008; Todorova *et al.*, 2015); *Artemisia dracunculus* L. uma planta perene com propriedades medicinais (antitumoral) e utilizada na culinária e agricultura (Karimi *et al.*, 2015); *Artemisia vulgaris* L. é uma planta aromática, herbácea, perene e rizomatosa originária da Europa ou Ásia (Lorenzi & Matos, 2002; Pellicer *et al.*, 2008).

Como nenhuma dessas espécies possui plantio comercial e a produção de biomassa é um dos fatores que podem restringir a produção de princípios ativos de interesse econômicos, se fazem necessários experimentos para a produção de princípios ativos dessas plantas. A falta de domínio tecnológico de todas as etapas de desenvolvimento das plantas medicinais pode levar à baixa qualidade da biomassa, de teores dos principais constituintes químicos e de rendimentos do óleo essencial. Portanto, antes de se iniciar o cultivo em escala comercial, é necessário conhecer o comportamento da espécie com relação aos efeitos climáticos da região de plantio, aos tratos culturais e a qualidade do solo para seu desenvolvimento (Seixas *et al.*, 2013; Veloso *et al.*, 2014).

Os fertilizantes químicos (N-P-K) são conhecidos por aumentar a produção em diversos sistemas agrícolas, mas pouco se sabe sobre os efeitos interativos desses fertilizantes químicos sobre o crescimento e acúmulo de metabólitos secundários em plantas medicinais, principalmente com relação aos óleos essenciais (Benedetti *et al.*, 2009; Luz & Armas, 2010; Rodrigues *et al.*, 2014). O nitrogênio (N) participa na formação dos aminoácidos e da molécula de clorofila, responsável pela realização da fotossíntese. O fósforo (P) atua também na fotossíntese, respiração, divisão celular, armazenamento e transporte de energia (ATP). O potássio (K) desempenha função primordial da transformação da energia solar em química e da síntese de várias proteínas, sendo ativador enzimático em processos vitais a nível celular.

A eficiência e a produção destes metabólitos secundários dependem da taxa de fotossíntese e das atividades enzimáticas que contribuem para formação e, conseqüentemente maior rendimento do óleo (Ozguven *et al.*, 2008).

As pesquisas voltadas para o efeito da adubação em espécies medicinais é ainda insuficiente diante da diversidade. No entanto, é de suma importância desenvolver técnicas agronômicas de cultivo, visando à padronização da matéria prima vegetal (Araújo *et al.*, 2009; Corrêa *et al.*, 2010) pois o Brasil produz 8% do óleo essencial no mundo e as exigências de exportação são cada vez maiores (Lubbe & Verpoorte, 2011).

Apesar de a adubação química ser uma prática bastante difundida no setor agrícola, no Brasil há pouca informação de sua aplicabilidade nas plantas medicinais (Benedetti *et al.*, 2009). Diante da falta de padronização no cultivo de plantas medicinais, especialmente no gênero *Artemisia*, este trabalho teve por objetivo avaliar quatro doses de N-P-K, em duas épocas distintas de colheita, observando o desempenho agrônômico, o rendimento e a composição do óleo essencial de *A. annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculus* e *A. vulgaris* cultivadas em casa de vegetação.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Obtenção, preparo das mudas e plantio

O experimento foi conduzido no viveiro de plantas ornamentais da Universidade Federal de Viçosa-UFV no município de Viçosa-MG (42° 52'W e 650 m de altitude em média), em casa de vegetação no período de 10 de março de 2013 a 10 de novembro de 2013. Um voucher de cada espécie de *Artemisia* foi depositado no Herbário da UFV sob os números: VIC15592, VIC15614, VIC42223, VIC42224 e VIC42225.

Artemisia annua cv. Artemis foi propagada por meio de sementes cedidas gentilmente pelo Professor Dr. Pedro Melillo Magalhães da UNICAMP, provenientes de híbridos de melhoramento genético. As espécies *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculus* foram adquiridas por meio de mudas na Floricultura Florarte, do viveiro comercial do estado de São Paulo. A espécie *Artemisia vulgaris* foi coletada em área experimental do campus da

UFV. A propagação foi feita por meio de estacas caulinares ou por semente em copos de plástico com volume de 300 mL com substrato comercial (Plantmax®). Após enraizamento das mudas foi realizado o transplante para vasos de 10 L em casa de vegetação (**Figura 2.1**).

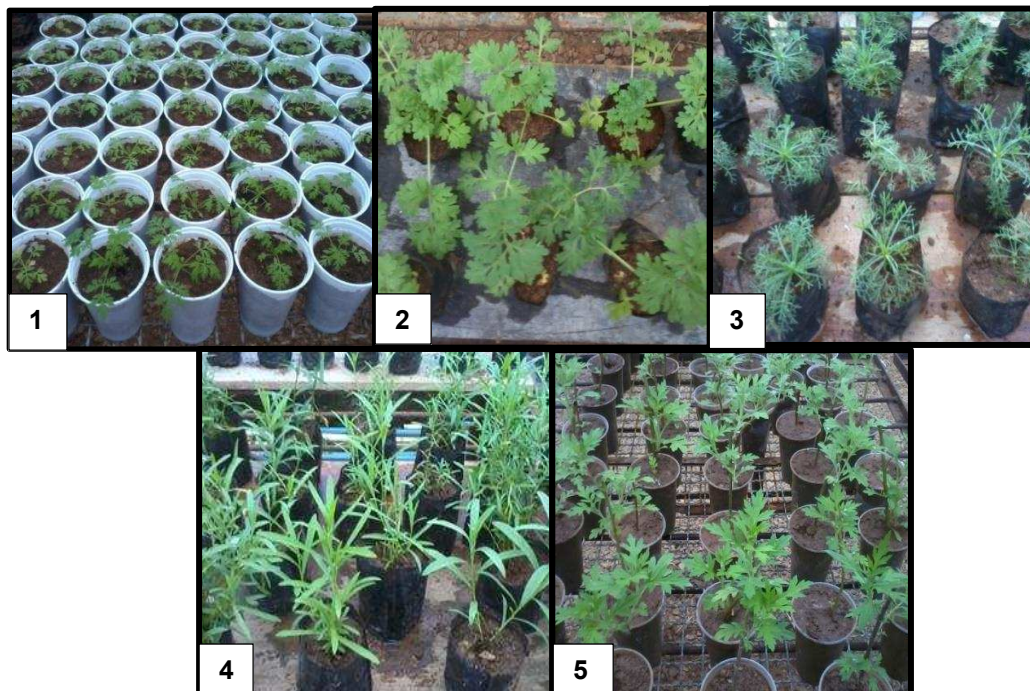


Figura 2.1. Mudas de *Artemisia* em casa de vegetação. 1 (*Artemisia annua*); 2 (*A. absinthium*); 3 (*A. camphorata*); 4 (*A. dracunculus*) e 5 (*A. vulgaris*).

2.2.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (5x4) sendo cinco espécies de *Artemisia* spp. (*A. annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculus* e *A. vulgaris*), e quatro doses de adubação (NPK): sem adubação (D0), metade da dose (D1), dose indicada para experimento (D2) e o dobro da dose indicada (D3), com cinco repetições e em duas épocas de colheita (60 e 125 dias após o transplante). Foram utilizados 100 vasos plásticos com capacidade de 10 L e cada vaso com duas plantas para posterior coleta em épocas distintas. O substrato foi constituído por solo classificado como Latossolo Vermelho Distrófico (Embrapa, 2003), coletado na camada de 0-20 cm (**Tabela 2.1**).

Tabela 2.1. Características químicas do solo coletado em área de vegetação natural de Mata Atlântica, na camada de 0-20 cm no município de Viçosa-MG

pH	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	V	m	MO	P-rem
H ₂ O	mg/dm ³									-----%	dag/kg	mg/L
5,59	0,90	13	1,24	0,35	0,49	5,50	1,62	7,12	22,8	23,2	2,91	14,30

Laboratório de Fertilidade do Solo da UFV, segundo as especificações da Embrapa (2003).

A dose do fertilizante mineral foi baseada na análise química do solo (Ribeiro *et al.*, 1999), e as quantidades aplicadas do fertilizante mineral encontram-se na **Tabela 2.2**. As fontes de N, P e K utilizadas foram sulfato de amônio P.A. ((NH₄)₂SO₄), cloreto de potássio P.A. (KCl) e superfosfato simples P.A. (SS), respectivamente. O sulfato de amônio (21% N), superfosfato simples (18% P₂O₅) e cloreto de potássio (60% K₂O) foram usados como as fontes de nitrogênio, fósforo e potássio, respectivamente.

Tabela 2.2. Doses do fertilizante mineral utilizadas no experimento.

Doses	N	P	K
	-----g vaso-----		
D0	-	-	-
D1	3,5	20	1,5
D2	7,0	40	3,0
D3	10,5	60	4,5

D0= sem adubação; D1= dose de 50%; D2= dose de 100%; D3= dose de 150% conforme a análise de solo. N= nitrogênio; P= fósforo; K= potássio.

O fósforo foi aplicado antes do transplante e a adubação nitrogenada e potássica foram aplicadas em duas partes, no transplante e antes da floração (**Figura 2.2**).



Figura 2.2. Desenvolvimento das plantas de *Artemisia* em casa de vegetação.

2.2.3. Variáveis analisadas

As variáveis analisadas foram altura da planta (H), diâmetro do caule a 10 cm do chão (D), massa fresca das folhas (MFF), massa seca das folhas (MSF), rendimento e composição química do óleo essencial (OE) realizados após 60 e 125 dias do transplante (DAT). Alguns parâmetros foram necessários, representados pelas equações (1), (2) e (3).

$$U(\%) = \frac{(MFF - MSS)}{MFF} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

$$MSF = MFF - (MFF \times U\%) \quad \text{Equação (2)}$$

$$\text{Rendimento} = \frac{V(\text{mL})}{MSF(\text{g})} \times 100 \quad \text{Equação (3)}$$

Onde:

U (%) = Teor de umidade

MSF = massa seca das folhas;

MFF = massa fresca das folhas;

V = volume (mL)

Para obtenção dos parâmetros a serem analisados as plantas foram cortadas rente ao solo, separando a parte aérea da parte radicular para análise da massa fresca e posteriormente da massa seca. As amostras foram lavadas com água corrente, colocadas para secar em papel toalha e pesadas. Em seguida foram submetidas à extração do óleo essencial em extrator tipo clevenger. O teor de umidade foi determinado em estufa colocando-se três amostras de 2 g de folhas frescas de cada espécie e deixado para secar a 105°C por 24 h até a obtenção da massa constante (Marco *et al.*, 2008).

2.2.4. Extração do óleo essencial

O óleo essencial foi extraído de folhas frescas (3 x 100 g) e cada amostra foi triturada e submetida à extração por hidrodestilação durante duas horas em aparelho tipo Clevenger. Os óleos obtidos foram recolhidos na forma de hidrolato e extraídos com pentano (3 x 40 mL) em funil de separação. As

fases aquosas foram descartadas e as fases orgânicas secadas com sulfato de magnésio anidro ($MgSO_4$). O sólido foi removido por filtração e o solvente evaporado sob pressão reduzida, a 40 °C, em evaporador rotativo. Os óleos obtidos foram acondicionados em frascos de vidro âmbar, pesados e mantidos sob refrigeração à temperatura de aproximadamente - 4 °C. Este procedimento foi feito em triplicata. A partir dessas massas foram calculados os rendimentos do óleo de casa espécie.

2.2.5. Análise qualitativa dos constituintes químicos por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM)

A análise qualitativa dos constituintes do óleo das espécies de *Artemisia* foi realizada em aparelho Shimadzu GCMS-QP5050A, equipado com coluna de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 μm) e acoplado ao espectrômetro de massas. O gás Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,8 mL min^{-1} ; temperatura do injetor 220 °C, temperatura inicial da coluna 40 °C, isoterma por 2 min., seguido de aquecimento de 3 °C min^{-1} até 240 °C, mais isoterma por 15 min.; volume de injeção 1,0 μL (1% p/v em CH_2Cl_2); razão de Split 1: 20; pressão da coluna 100 kPa; temperatura da interface 240 °C; ionização por impacto de elétrons (70 eV); amplitude de varredura de 30 a 600 daltons.

2.2.6. Análise quantitativa dos constituintes dos óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chamas (CG-FID)

Após a identificação dos constituintes dos óleos essenciais, a determinação do teor de cada composto foi realizada por cromatografia gasosa utilizando o cromatógrafo Shimadzu, modelo 17A, conectado ao detector de ionização de chamas (CG-DIC) equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (SBP5-Supelco, 30 m x 0,25 mm d.i, espessura do filme de 0,25 μm). A temperatura da coluna foi programada para variar de 40 °C (4 min.) a 200 °C a uma taxa de 3 °C min^{-1} . O injetor e o detector foram mantidos a 200 °C e 240 °C, respectivamente. O gás de arraste foi o nitrogênio a uma taxa de fluxo de 1,8 mL min^{-1} . A quantidade de 1,0 μL (solução do óleo essencial 1% m/v em diclorometano) foi injetada e a razão de split foi de 1:10.

As análises foram realizadas em triplicata e a concentração de cada constituinte foi calculada pela porcentagem da área do pico correspondente em relação à área total dos picos. A identificação dos constituintes de cada mistura de óleo foi realizada pela comparação de seus tempos de retenção, relativos à série de alcanos ($C_9 - C_{27}$), e pela comparação dos espectros de massa com o banco de dados da biblioteca Wiley e Nist 05, 08 e 11 e com a literatura (Adams, 2007).

2.2.7. Análise estatística

Os dados foram interpretados por meio de análise de variância e de regressão. Os dados foram realizados pelo programa *Assistat*.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Características botânico-agronômicas

As mudas de *Artemisia* no período de transplante em casa de vegetação apresentaram diferenças na altura e no seu desenvolvimento. As mudas de *A. annua* e *A. absinthium* apresentavam altura entre 15 a 18 cm. *A. camphorata* de 8 a 10 cm e as mudas de *A. dracunculus* e *A. vulgaris* apresentaram altura de 18 a 20 cm no momento do transplante.

Nas condições experimentais realizadas, observou-se visualmente que as plantas das espécies *A. dracunculus* e *A. vulgaris* apresentaram mais vigorosas, com melhor desenvolvimento vegetativo, demonstrando uma melhor adaptação às condições experimentais.

A espécie de *A. annua* apresentou maior altura em comparação às demais espécies nas duas épocas de colheita (60 e 125 DAT) e as espécies *A. absinthium* e *A. camphorata* apresentaram o menor valor referente a esta variável. De modo geral os tratamentos D1 e D2 com N-P-K propiciaram os maiores valores em altura em todas as espécies de *Artemisia* avaliadas (**Figuras 2.3**).

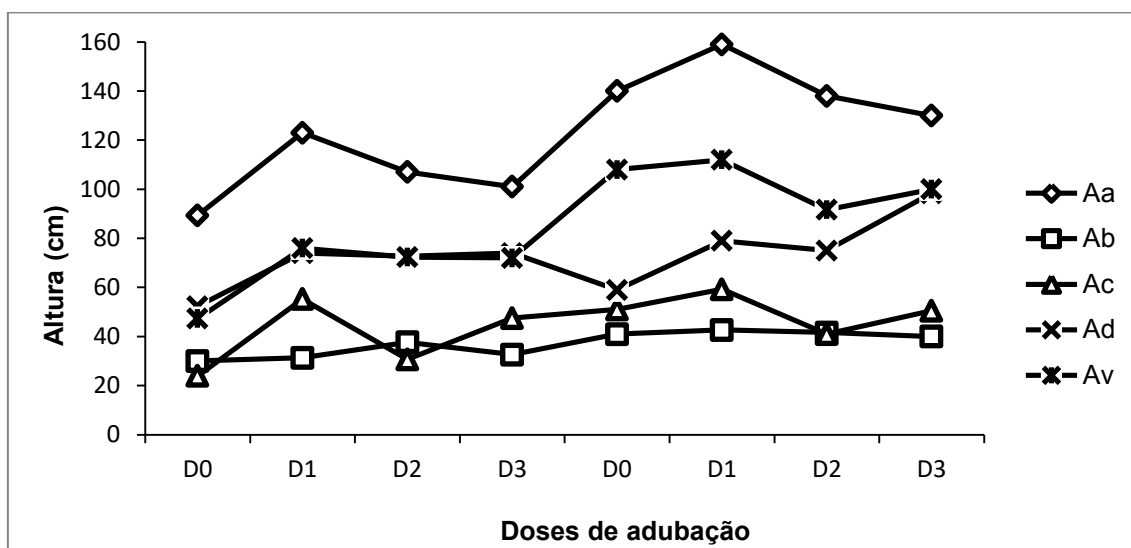


Figura 2.3. Altura de cinco espécies de *Artemisia*: *A. annua* (Aa), *A. absinthium* (Ab), *A. camphorata* (Ac), *A. dracunculus* (Ad) e *A. vulgaris* (Av) conforme as doses de adubação em duas épocas de colheita .

As diferenças na altura das plantas de uma mesma espécie podem ser atribuídas à desordem do sistema radicular em função do excesso de nutrientes (Corrêa *et al.*, 2010). Neste sentido é importante conhecer os níveis adequados de nutrientes para fertilização de cada espécie visando reduzir custos na adubação, maximizar a colheita e evitar efeitos fitotóxicos.

Na primeira época de colheita somente a espécie *A. vulgaris*, teve decréscimo do diâmetro do caule com o aumento da dose de NPK. Nas outras espécies (*A. absinthium* e *A. dracunculus*), foi verificado que o acréscimo da dose de N-P-K proporcionou um aumento do diâmetro do caule das plantas nas duas épocas de colheita (**Figura 2.4**).

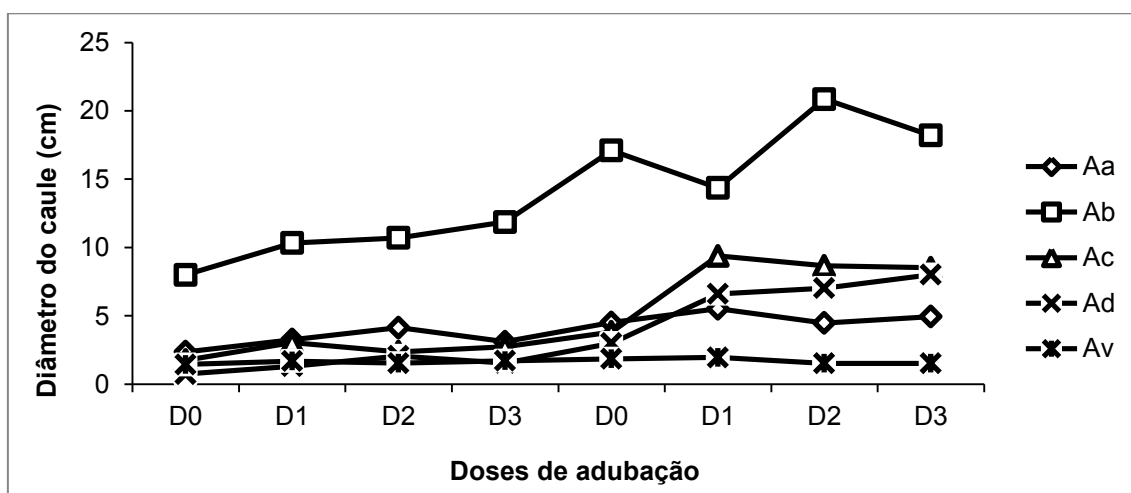


Figura 2.4. Diâmetro do caule de cinco espécies de *Artemisia*: *A. annua* (Aa), *A. absinthium* (Ab), *A. camphorata* (Ac), *A. dracunculus* (Ad) e *A. vulgaris* (Av) conforme as doses de adubação em duas épocas de colheita.

No caso da massa fresca e da massa seca das folhas, as espécies de *Artemisia* mantiveram o mesmo padrão de crescimento. Na primeira época de colheita verificou-se aumento da massa fresca e da massa seca das folhas com o aumento da dose de adubação mineral. Esses valores de biomassa podem ser explicados possivelmente pela maior disponibilidade de nutrientes em decorrência do aumento das dosagens. Na segunda colheita observou-se tendência de redução da massa fresca e massa seca das folhas na dose D3 em relação à dose D2 em *A. annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata* e *A. vulgaris* (Figuras 2.5 e 2.6).

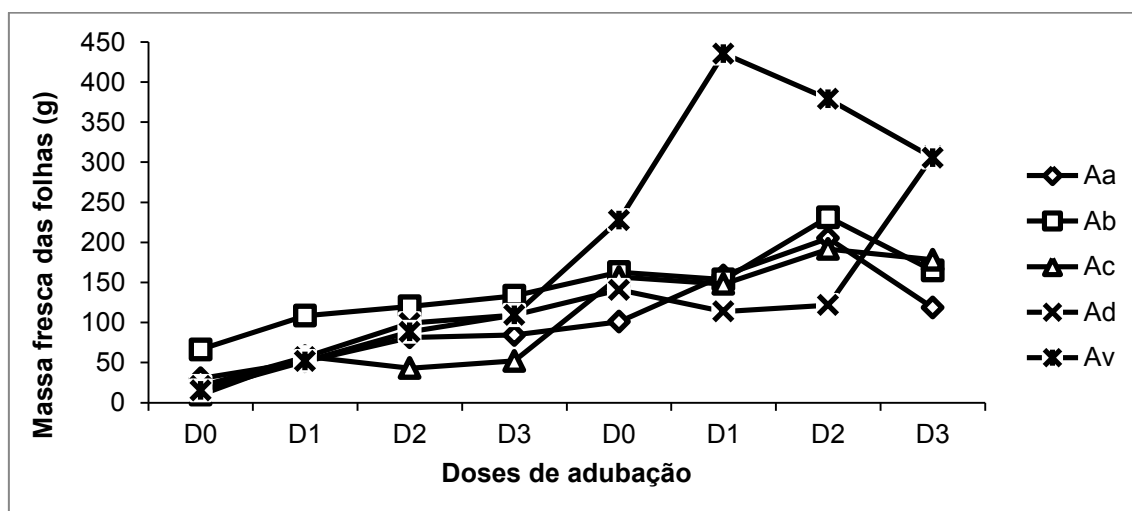


Figura 2.5. Massa fresca das folhas de cinco espécies de *Artemisia*: *A. annua* (Aa), *A. absinthium* (Ab), *A. camphorata* (Ac), *A. dracunculus* (Ad) e *A. vulgaris* (Av) conforme as doses de adubação em duas épocas de colheita.

Houve diferença significativa na produção de massa fresca por planta em todas as espécies. No tratamento D0 (controle) a espécie *A. absinthium* destacou-se na produção de massa fresca. Na dose D3, na segunda época de colheita, as espécies *A. dracunculus* e *A. vulgaris* tiveram maior produção de massa fresca, resultando em maior capacidade fotossintética devido a maior biomassa. A espécie *A. annua* obteve menor massa fresca nessa dose de NPK.

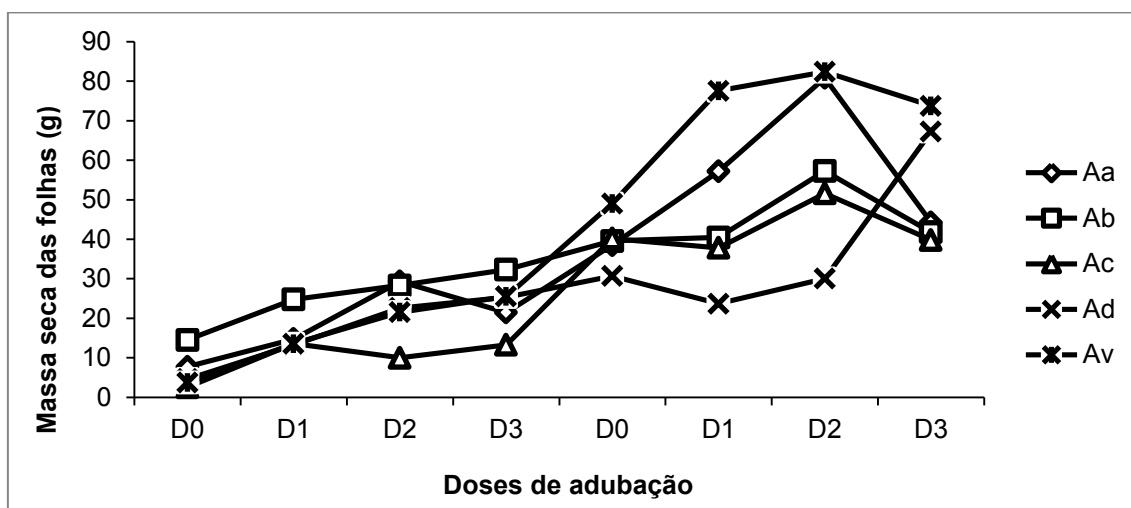


Figura 2.6. Massa seca das folhas de cinco espécies de *Artemisia*: *A. annua* (Aa), *A. absinthium* (Ab), *A. camphorata* (Ac), *A. dracunculus* (Ad) e *A. vulgaris* (Av) conforme as doses de adubação em duas épocas de colheita.

No tratamento D3 as espécies *A. annua*, *A. camphorata*, *A. absinthium* e *A. vulgaris* tiveram queda na produção de massa fresca e seca em relação ao tratamento D2. O excesso de nutriente no solo reduz a eficácia de outros e, por conseguinte pode diminuir o rendimento das culturas (Corrêa *et al.*, 2010).

A espécie *A. dracunculus* apresentou aumento da biomassa conforme aumentava a dose de NPK, provavelmente porque o N favoreceu o crescimento vegetativo proporcionando, conseqüentemente, aumento na produção de massas fresca e seca (Moreira *et al.*, 2007; Corrêa *et al.*, 2010). As espécies aos 60 DAT apresentaram aumento na biomassa fresca e seca e aos 125 DAT a produção de biomassa teve decréscimo na dose D3 em todas as espécies com exceção de *A. dracunculus*. Fato esse que pode ter ocorrido devido o período de senescência da planta, e a necessidade de nutrientes não ser prioridade (**Tabela 1.3**).

Tabela 1.3. Valores médios de cinco espécies de *Artemisia* referentes às variáveis: altura da planta, diâmetro do caule, massa fresca e massa seca das folhas, utilizando quatro doses de NPK (D0, D1, D2 e D3) em função da época de colheita.

Espécies	1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)			
	D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3
Altura (cm planta⁻¹)								
<i>A. annua</i>	89,33 a	123,0a	107,00 a	101,00a	140,00 a	159,0a	138,00a	130,00a

<i>A. absinthium</i>	30,00 c	31,33 d	37,66 c	32,66 d	41,00 e	42,66 e	41,66 d	40,00 d
<i>A. camphorata</i>	24,00 c	53,66 c	30,66 c	47,00 c	51,00 d	59,00 d	41,00 d	50,33 c
<i>A. dracuncululus</i>	52,33 b	74,00 b	72,66 b	74,00 b	59,00 c	79,00 c	75,00 c	98,33 b
<i>A. vulgaris</i>	47,33 b	76,00 b	72,33 b	72,00 b	108,00 b	112,0b	91,66 b	100,00b
Diâmetro do caule (cm planta⁻¹)								
<i>A. annua</i>	2,36 b	3,26 b	4,13 b	3,10 b	4,51 b	5,52 d	4,47 d	4,94 d
<i>A. absinthium</i>	8,00 a	10,33 a	10,70 a	11,86 a	17,10 a	14,36 a	20,86 a	18,20 a
<i>A. camphorata</i>	1,75 bc	3,04 b	2,36 c	2,73 b	3,82 c	9,38 b	8,66 b	8,51 b
<i>A. dracuncululus</i>	0,74 d	1,31 c	2,06 cd	1,54 c	3,00 d	6,60 c	7,03 c	8,01 c
<i>A. vulgaris</i>	1,44 c	1,69 c	1,53 d	1,71 c	1,85 e	1,95 e	1,52 e	1,52 e
Massa Fresca das Folhas (g planta⁻¹)								
<i>A. annua</i>	30,22 b	51,47 c	81,42 d	84,51 c	101,00 e	158,5b	205,21c	118,50 d
<i>A. absinthium</i>	66,50 a	108,4a	120,1a	133,2a	162,91 b	153,7b	231,39b	164,94 c
<i>A. camphorata</i>	10,04 e	57,76 b	43,17 e	52,05d	156,66 c	148,0c	191,66d	178,33 b
<i>A. dracuncululus</i>	20,65 c	56,87 b	99,24 b	109,1b	140,78 d	113,6d	121,72e	307,24 a
<i>A. vulgaris</i>	15,24 d	51,89 c	88,38 c	109,3b	227,50 a	435,3a	378,94a	305,66a
Massa Seca das Folhas (g planta⁻¹)								
<i>A. annua</i>	7,73 b	14,76 b	29,31 a	21,47 c	38,51 b	57,20 b	80,83 a	44,26 c
<i>A. absinthium</i>	14,54 a	24,78 a	28,31 a	32,31 a	39,58 b	40,46 c	57,27 b	41,79 d
<i>A. camphorata</i>	2,57 d	13,61bc	9,99 c	13,28 d	40,17 b	37,83 d	51,62 c	39,81 d
<i>A. dracuncululus</i>	4,62 c	13,27 c	22,61 b	25,35 b	30,69 c	23,68 e	30,05 d	67,23 b
<i>A. vulgaris</i>	3,73 cd	13,59bc	21,57 b	25,53 b	49,05 a	77,57 a	82,36 a	73,76 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0.05).

A redução da taxa de crescimento nas espécies de *Artemisia* na dose D3, na segunda época de colheita, teve relação com o final do ciclo da planta, com a absorção e incorporação lenta de nutrientes e com a não emissão de novos órgãos vegetativos. Este fato se deve à maior concentração de hormônios de senescência, que provavelmente acumularam-se na fase de floração (Larcher, 2006; Mapeli *et al.*, 2005; Barbosa *et al.*, 2008).

A produção de massas fresca e seca foi reduzida na dose D0, fato esse que corrobora para comprovação do efeito deletério da deficiência de P na formação de raízes demonstrando que, na deficiência desse nutriente, a planta redireciona a distribuição de fotoassimilados para as raízes.

A análise de regressão revelou efeito significativo da adubação para todas as variáveis estudadas mesmo em solo de baixa fertilidade (D0). O comportamento quadrático foi o ajuste que melhor explicou a variação dessas variáveis em função do aumento das doses de adubação (**Apêndice**). Esse efeito indica que a espécie de *Artemisia* respondeu crescentemente até certo

nível de adubação. Posteriormente, atingiu máxima produtividade e decresceu quando a adubação excedeu o ponto de máxima. Tais informações são importantes, pois oferecem segurança quanto à resposta da cultura à adubação, evitando-se, dessa forma, perda de fertilizante por excesso.

A partir dos dados de crescimento podem se ampliar os conhecimentos a respeito da biologia da planta, permitindo o desenvolvimento de técnicas de manejo das espécies ou estimando as causas de variação de crescimento entre plantas geneticamente diversas (Castro *et al.*, 1999; Castro *et al.*, 2006).

2.3.2. Teor de óleo essencial

Os teores dos óleos essenciais das espécies de *Artemisia* estudadas variaram de 0,08% a 2,27%, nas duas épocas de colheita. As espécies que apresentaram maiores teores de óleo aos 60 DAT foram *A. camphorata* ($1,44 \pm 0,46$) e *A. dracunculus* ($1,41 \pm 0,07$) ambas com a dose D1. Em *A. annua* foi constatado um decréscimo no teor do óleo essencial conforme aumentou-se a dose de NPK, como podemos verificar: D0 ($0,67 \pm 0,13$), D1 ($0,65 \pm 0,33$), D2 ($0,51 \pm 0,14$) e D3 ($0,31 \pm 0,13$). A espécie com menor teor foi *A. vulgaris* com a dose D0 ($0,14 \pm 0,06$), D1 ($0,09 \pm 0,01$), D2 ($0,18 \pm 0,04$) e D3 ($0,22 \pm 0,02$) seguida da espécie *A. absinthium* com teores variando de 0,11 a 0,25% (**Figura 2.3**).

Aos 125 DAT os teores de óleo essencial das duas espécies *A. camphorata* e *A. dracunculus* mantiveram os índices elevados de óleo podendo ser devido a interação entre os macronutrientes. A espécie *A. camphorata* obteve o melhor teor na dose D1 ($2,27 \pm 0,14$) em relação à testemunha D0 ($1,62 \pm 0,01$). O mesmo resultado foi observado com a espécie *A. dracunculus* (D1 ($1,87 \pm 0,07$) e D0 ($0,56 \pm 0,05$)). A espécie *A. absinthium* apresentou na dose D0 ($0,16 \pm 0,02$) e D1 ($0,08 \pm 0,00$) teores baixos de óleo essencial quando comparada às doses D2 ($0,34 \pm 0,03$) e D3 ($0,41 \pm 0,03$). A espécie *A. annua* apresentou aumento no teor do óleo essencial na dose D1 ($0,68 \pm 0,06$) em comparação com as doses D2 ($0,48 \pm 0,13$) e D3 ($0,28 \pm 0,13$). E a espécie *A. vulgaris* manteve o baixo teor do óleo essencial variando de 0,12 a 0,18% em todas as doses testadas (**Figura 2.3**).

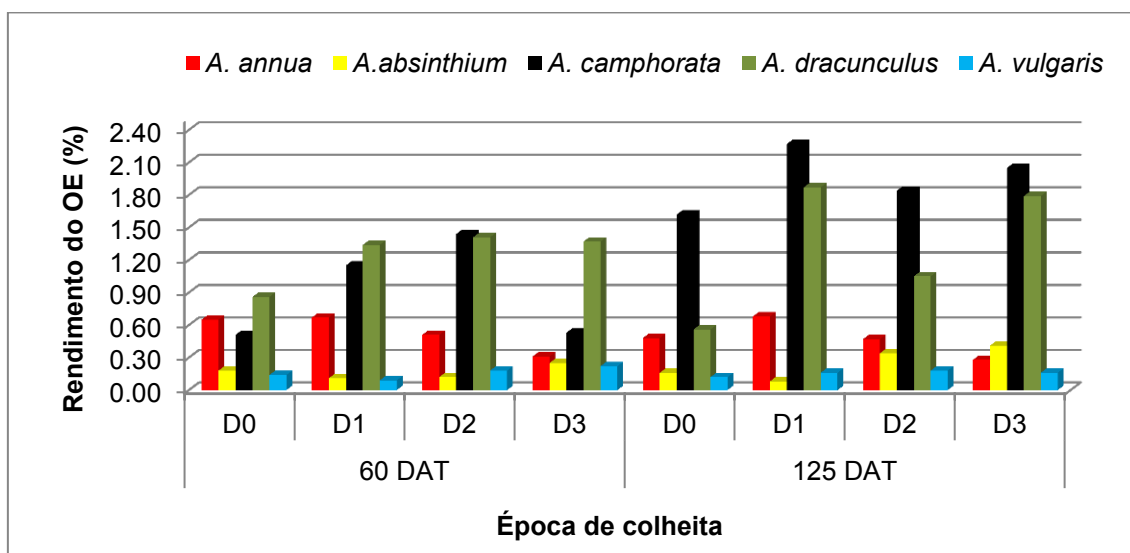


Figura 2.3. Teor dos óleos essenciais de *Artemisia annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculus* e *A. vulgaris* com base na massa seca e em todas as doses de adubação D0= controle; D1=metade da dose; D2=dose indicada e D3=dose indicada mais metade de uma dose em duas colheitas: 60 DAT dias após o transplante (setembro/2013) e aos 125 DAT (novembro/2013) no município de Viçosa - MG.

Em *A. camphorata* foi relatado rendimento de 3% na região da Jordânia, demonstrando o quanto as condições ambientais e de cultivo influenciam o metabolismo secundário das plantas medicinais (Darwish *et al.*, 2015).

De acordo com Orav *et al.* (2006), o teor de óleo essencial em *A. absinthium* é baixo (0,2 a 1,5%) em regiões da Europa. Msaada *et al.* (2015) encontraram entre 1,0 e 1,46% de rendimento de óleo na região de Tunísia e Lopes-Lutz *et al.* (2008) obtiveram um teor de 0,5% no Canadá. Estas variações podem ser devidas às diferenças geográficas e ao material genético.

A espécie *A. dracunculus* respondeu de forma positiva a adubação com fontes de N-P-K, favorecendo o metabolismo através da maior produção de biomassa e do rendimento do óleo. De acordo com Karimi *et al.* (2015), o teor do óleo essencial oscilou entre 1,42% a 2,53% em condições de campo no Iran. Em *A. vulgaris* o rendimento dessa espécie foi considerado baixo (0,4%) em folhas de plantas cultivadas na Turquia (Erel *et al.*, 2012) e na Índia 0,25% (Bamoniri *et al.*, 2010).

Cabe ressaltar que o teor de óleo essencial na planta pode ser influenciado pela época da coleta e o estágio de desenvolvimento da planta,

pois em fase de crescimento existe uma demanda maior por nutrientes. Esse aumento no óleo essencial foi verificado aos 125 DAT e está relacionado ao crescimento das plantas, tais como, divisão celular, alongamento e diferenciação (Larcher, 2006; Aftab *et al.*, 2014).

Esse aumento do óleo essencial pode estar relacionado ao fato que o macronutriente fósforo é fundamental na formação do trifosfato de adenosina (ATP), o qual armazena e transporta energia do meio externo, permitindo a síntese de substâncias orgânicas e a absorção de nutrientes (Melo *et al.*, 2016).

A aplicação de fertilizantes em plantas aromáticas normalmente afeta a produção de óleos essenciais. Assim, deve ser feita uma avaliação das exigências de cada espécie, bem como, do manejo adequado da adubação (Barbosa *et al.*, 2008; Seixas *et al.*, 2013).

2.3.3. Identificação dos constituintes químicos

A análise qualitativa dos constituintes dos óleos essenciais foi feita por CG-EM. A identificação foi feita em comparação com dados existentes nas bibliotecas e com os índices de Kovats (índice aritmético calculado e tabelado) (**Tabelas 1.4; 1.5; 1.6; 1.7 e 1.8**) (Adams, 2007).

Muitos fatores, incluindo variação genética, quimiotipo da planta ou variedade, nutrição, aplicação de fertilizantes, localização geográfica, variações sazonais, estresse durante o crescimento ou maturidade, influenciam no rendimento, na composição, e nas propriedades biológicas dos óleos essenciais (Raut & Karuppayil, 2014).

Como pode ser visto na **Tabela 1.4** a espécie *A. annua* apresentou cânfora (14,72% a 56,79%) e composto borneol como constituintes majoritários. Foram identificados germacreno D e α -amorfeno em ambas as colheitas. No entanto, a percentagem de germacreno D teve valor de 18,28% nas doses D0 e D1 aos 60 DAT. Nas doses D1(19,68%) e D2 (20,99) aos 125 DAT (**Tabela 1.4**).

A. Absinthium teve o composto β -pineno (10,52% a 16,46%) somente aos 125 DAT em todas as doses. O constituinte majoritário foi o composto

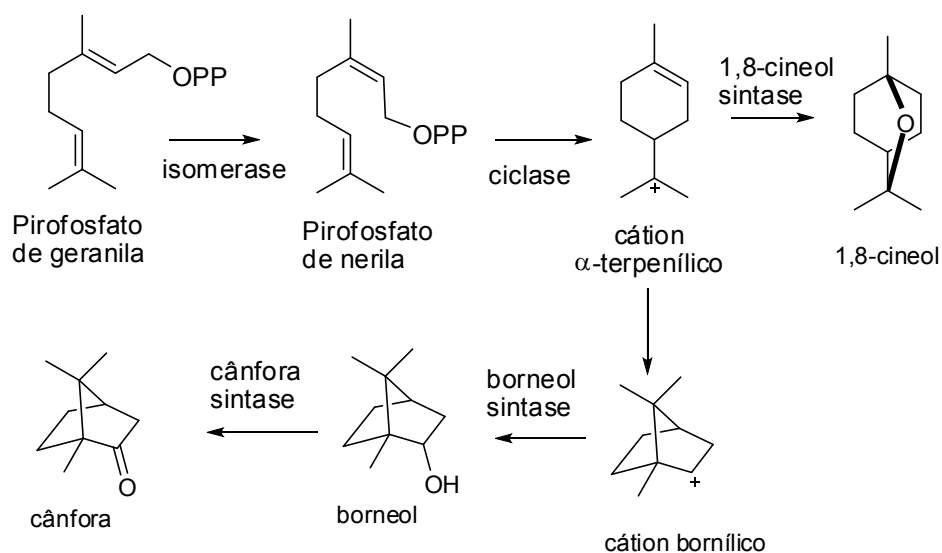
mirreno na dose D3 (34,64%) aos 125 DAT. Importante ressaltar que o teor de Z-isocitral foi maior com o aumento das doses de adubação (**Tabela 1.5**).

Na **Tabela 1.6** estão relacionados os compostos identificados no óleo da espécie *A. camphorata*. O constituinte majoritário foi o composto germacreno D4-ol na dose D0 aos 60 DAT. Elevados teores do composto 1,8-cineol (10,84 a 14,64%) foram observados quando utilizadas as doses D1, D2 e D3 em ambas as colheitas. Entretanto, quando na dose D0 o teor deste constituinte foi inferior às demais (8,12% e 9,28%) nas duas colheitas, indicando que a adubação proporciona maior concentração devido a maior biomassa. Outro composto observado foi ascaridol que aos 60 DAT teve aumento progressivo D0= 13,70%; D1= 16,44%; D2= 17,88% e D3= 24,76% e aos 125 DAT manteve padrão (10,26% a 11,07%) em todas as doses. O composto borneol somente foi identificado aos 125 DAT com D0=0,15%; D1=8,65%; D2=10,23% e D3=9,57%.

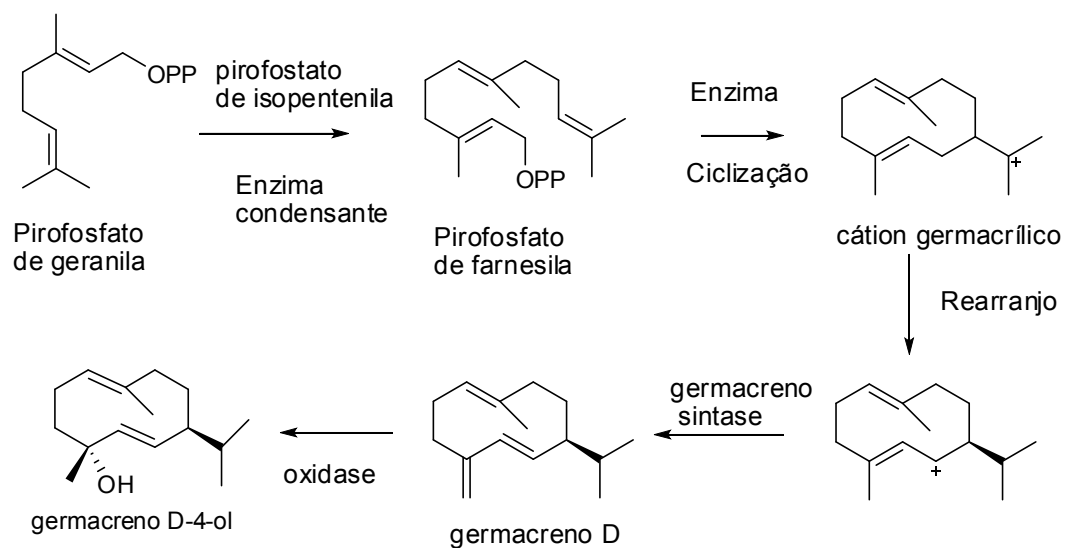
A espécie *A. dracunculus* apresentou como composto majoritário o metileugenol presente em todas as doses e colheitas. Porém o maior destaque foi na dose D0 com 89,30 % aos 60 DAT. O β -pineno estava ausente na dose D0 aos 60 DAT, mas nas demais doses oscilaram de 14,61% a 25,67% (**Tabela 1.7**).

Na espécie *A. vulgaris* o composto 1,8-cineol estava ausente na dose D0 aos 60 DAT, mas apresentou tendência de aumento da concentração conforme aumento da dose de adubação em ambas as colheitas. A *trans*-tujona está presente em todas as doses e colheitas (**Tabela 1.8**).

O geranyl difosfato é composto precursor de monoterpenos e pode originar, através de várias reações enzimáticas, 1,8-cineol, sabineno, hidrato de sabineno, linalol, acetato de linalila e limoneno. A interconversão dos componentes é determinada geneticamente e pode ser afetada por fatores agrônômicos (Garlet *et al.*, 2007). Essa variedade na composição química pode estar relacionada ao mineral potássio (K), pois o mesmo está envolvido na síntese de compostos aromáticos por meio da ativação de várias enzimas. As condições de aumento na concentração desse nutriente podem ter provocado uma estimulação nas atividades enzimáticas, alterando conseqüentemente a composição dos óleos (**Esquemas 1 e 2**) (Garlet *et al.*, 2007).



Esquema 1. Possível rota biossintética do 1,8-cineol, borneol e cânfora.



Esquema 2. Possível rota biossintética do germacreno D e germacreno D-4-ol.

Tabela 1.4. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. annua* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente.

Compostos	Concentração (%)									
	<i>Artemisia annua</i>		1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)			
			IA _C	IA _T	D0	D1	D2	D3	D0	D1
Canfeno	943	946	-	0,42 ± 0,02	0,23 ± 0,03	-	0,48 ± 0,00	0,45 ± 0,08	0,31 ± 0,00	-
(3E)-Octen-2-ol	981	982	0,41 ± 0,01	0,59 ± 0,06	-	0,61 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,53 ± 0,03	0,42 ± 0,00	-
σ-cymeno	1026	1022	0,66 ± 0,02	0,66 ± 0,06	1,10 ± 0,04	0,44 ± 0,03	0,95 ± 0,00	0,38 ± 0,00	0,45 ± 0,01	-
1,8-cineol	1027	1026	2,37 ± 0,03	2,37 ± 0,05	2,00 ± 0,05	2,08 ± 0,02	0,90 ± 0,02	2,37 ± 0,06	2,87 ± 0,02	4,05 ± 0,00
γ-terpineno	1057	1054	0,33 ± 0,05	0,13 ± 0,01	0,30 ± 0,06	0,14 ± 0,00	0,18 ± 0,01	0,23 ± 0,04	0,23 ± 0,00	-
cis- hidrato de sabineno	1066	1065	0,13 ± 0,03	0,13 ± 0,01	-	-	-	0,25 ± 0,01	0,29 ± 0,03	0,52 ± 0,08
p-menta-3,8-dieno	1065	1068	-	-	-	0,18 ± 0,00	-	-	-	-
Terpinoleno	1097	1086	-	-	-	-	-	0,37 ± 0,00	0,31 ± 0,06	0,71 ± 0,09
cis-Tujona	1103	1101	-	-	-	-	0,25 ± 0,06	-	-	-
δ-3-Carene	1105	1008	-	-	1,25 ± 0,02	-	-	-	-	-
Mircenol	1106	1119	-	-	-	-	0,65 ± 0,05	1,11 ± 0,02	0,55 ± 0,08	1,29 ± 0,04
Cânfora	1144	1141	-	-	26,56 ± 0,03	26,70 ± 0,03	14,72 ± 0,02	32,72 ± 0,08	31,80 ± 1,23	56,79 ± 0,28
(Z)-isocitral	1160	1160	-	-	-	-	-	0,31 ± 0,01	0,22 ± 0,02	-
Pinocarvona	1160	1160	-	-	-	2,33 ± 0,00	-	-	-	7,54 ± 0,05
Borneol	1164	1165	33,07 ± 0,12	33,08 ± 0,15	1,84 ± 0,01	-	0,96 ± 0,02	1,92 ± 0,05	0,94 ± 0,01	-
Tuj-3-en-10-al	1176	1181	-	-	0,88 ± 0,01	1,21 ± 0,01	-	-	-	-
Terpinen-4-ol	1150	1174	3,32 ± 0,03	3,33 ± 0,09	-	-	-	-	-	1,91 ± 0,06
Óxido de <i>trans</i> -Linalool	1176	1173	-	-	-	-	0,48 ± 0,01	0,76 ± 0,06	0,69 ± 0,05	-
α-terpineol	1190	1186	0,82 ± 0,03	0,82 ± 0,03	0,39 ± 0,01	0,69 ± 0,00	0,38 ± 0,01	0,47 ± 0,08	0,39 ± 0,01	1,20 ± 0,00

Tabela 1.4. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. annua* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente. (continuação...)

Compostos	Concentração (%)									
			1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)			
	<i>Artemisia annua</i>	IA _C	IA _T	D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2
γ-terpineol	1190	1199	-	-	0,31 ± 0,02	0,71 ± 0,00	-	-	-	0,69 ± 0,00
<i>trans</i> -carveol	1220	1215	0,35 ± 0,02	0,35 ± 0,02	-	-	0,20 ± 0,02	-	-	-
<i>cis</i> -carveol	1233	1226	0,33 ± 0,06	0,33 ± 0,03	0,40 ± 0,08	0,52 ± 0,00	0,35 ± 0,00	0,48 ± 0,00	0,35 ± 0,08	0,91 ± 0,01
α-copaeno	1373	1374	0,51 ± 0,08	0,51 ± 0,05	0,61 ± 0,09	0,71 ± 0,05	0,44 ± 0,06	0,65 ± 0,02	0,73 ± 0,02	-
Propanoato de Isobornila	1388	1383	-	-	-	0,66 ± 0,02	0,55 ± 0,00	0,59 ± 0,04	0,54 ± 0,00	0,53 ± 0,02
(<i>E</i>)-cariofileno	1417	1417	6,06 ± 0,02	6,06 ± 0,02	6,16 ± 0,02	7,39 ± 0,12	5,48 ± 0,05	7,91 ± 0,01	7,79 ± 0,85	3,71 ± 0,03
α-humuleno	1451	1452	0,41 ± 0,08	0,41 ± 0,02	0,46 ± 0,00	0,65 ± 0,05	0,39 ± 0,06	0,46 ± 0,01	0,47 ± 0,01	-
(<i>E</i>)-β-farneseno	1458	1454	4,99 ± 0,15	4,99 ± 0,01	5,99 ± 0,08	5,41 ± 0,23	4,02 ± 0,00	4,45 ± 0,02	5,16 ± 0,84	2,47 ± 0,00
β-chamigreno	1475	1476	-	-	-	-	-	2,04 ± 0,21	2,01 ± 0,02	7,67 ± 0,15
α-amorfenos	1482	1483	-	-	21,99 ± 0,41	21,93 ± 0,13	16,54 ± 0,33	-	-	0,69 ± 0,00
Germacrene D	1482	1484	18,28 ± 0,58	18,28 ± 0,06	1,66 ± 0,05	1,61 ± 0,01	1,59 ± 0,00	19,68 ± 0,41	20,99 ± 0,12	0,56 ± 0,00
β-selineno	1485	1489	-	-	-	-	-	1,05 ± 0,02	1,14 ± 0,02	-
Biciclogermacreno	1495	1500	1,34 ± 0,25	1,34 ± 0,00	0,56 ± 0,00	0,27 ± 0,02	0,43 ± 0,00	2,25 ± 0,01	2,64 ± 0,03	0,73 ± 0,02
Germacreno A	1516	1508	0,35 ± 0,01	0,35 ± 0,02	-	-	-	0,25 ± 0,01	0,33 ± 0,01	-
δ-cadineno	1523	1522	0,16 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,23 ± 0,00	0,22 ± 0,00	0,43 ± 0,00	-	0,19 ± 0,06	-
Álcool de cariofilenil	1575	1570	2,44 ± 0,02	2,44 ± 0,02	3,15 ± 0,05	2,78 ± 0,03	2,20 ± 0,02	2,59 ± 0,02	2,22 ± 0,02	1,08 ± 0,00
Óxido de cariofileno	1582	1582	0,66 ± 0,01	0,66 ± 0,02	0,15 ± 0,00	1,25 ± 0,05	-	-	-	1,08 ± 0,10
Globulol	1583	1590	-	-	-	-	0,85 ± 0,00	0,99 ± 0,03	0,91 ± 0,05	-
epoxido-alloaromadendreno	1630	1638	-	-	2,20 ± 0,00	2,10 ± 0,02	-	-	-	0,77 ± 0,05
<i>epi</i> -cedrol	1619	1618	0,32 ± 0,01	0,32 ± 0,09	0,35 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,29 ± 0,00	0,38 ± 0,25	-	0,53 ± 0,21

1-epi-Cubenol	1624	1627	-	-	2,82 ± 0,00	1,71 ± 0,02	1,49 ± 0,01	1,77 ± 0,23	1,46 ± 0,25	0,48 ± 0,00
β-cedren-9-ona	1630	1630	1,78 ± 0,25	1,78 ± 0,05	-	-	1,51 ± 0,01	2,07 ± 0,63	1,87 ± 0,21	-
cis-cadina-4-en-7-ol	1635	1635	-	-	-	1,67 ± 0,00	-	1,75 ± 0,50	1,61 ± 0,02	2,17 ± 0,02
2-epi-α-cedren-3-ona	1642	1643	1,71 ± 0,01	1,71 ± 0,08	-	-	-	-	-	-
epi-α-cadinol	1646	1638	1,64 ± 0,01	1,64 ± 0,02	2,20 ± 0,12	-	1,40 ± 0,01	0,81 ± 0,32	0,68 ± 0,14	-
2-epi-β-cedren-3-ona	1647	1643	-	-	1,00 ± 0,00	1,04 ± 0,00	0,66 ± 0,02	-	-	-
Selina-11-en-4α-ol	1656	1658	1,19 ± 0,00	1,19 ± 0,08	1,31 ± 0,00	1,29 ± 0,00	1,25 ± 0,23	1,51 ± 0,28	1,21 ± 0,01	-
α-eudesmol	1659	1661	0,88 ± 0,02	0,88 ± 0,31	-	-	-	-	-	-
iso-cedranol	1672	1672	1,07 ± 0,00	1,07 ± 0,05	1,28 ± 0,00	0,86 ± 0,00	0,97 ± 0,02	1,52 ± 0,17	-	-
β-bisabolol	1674	1674	0,81 ± 0,02	0,81 ± 0,01	0,93 ± 0,00	1,46 ± 0,00	0,75 ± 0,05	0,86 ± 0,00	0,74 ± 0,21	-
α-bisabolol	1687	1685	1,51 ± 0,04	1,51 ± 0,01	1,78 ± 0,02	0,34 ± 0,00	34,44 ± 0,24	1,43 ± 0,01	1,05 ± 0,00	-
Cedr-8(15)-en-9α-ol	1691	1688	0,31 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,67 ± 0,13	-	-	-	-	-
epi-ciccolorenona	1783	1773	-	-	0,37 ± 0,00	0,26 ± 0,00	0,27 ± 0,14	-	-	-
% Total			88,90	90,85	91,48	91,64	97,08	98,27	93,94	98,82

IA_C= índice aritmético calculado; IA_T= índice aritmético tabelado; DAT= dias após o transplante; D0= dose de NPK sem adubação; D1= dose 50% indicada; D2=dose de adubação conforme a análise de solo; D3= dose indicada acrescida de 50%.

Tabela 1.5. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. absinthium* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de

ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente.

Compostos	Concentração (%)									
	IA _C	IA _T	1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)			
			D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3
<i>Artemisia absinthium</i>										
α -pineno	929	932	-	-	-	-	-	-	4,16 ± 0,00	1,27 ± 0,00
Sabineno	970	969	0,69 ± 0,01	2,00 ± 0,00	1,81 ± 0,00	-	-	-	-	-
β -pineno	970	974	-	-	-	-	16,46 ± 0,05	10,52 ± 0,02	15,21 ± 0,01	12,76 ± 0,01
(3E)-octen-2-ol	981	982	0,61 ± 0,01	0,94 ± 0,12	2,19 ± 0,02	-	0,94 ± 0,00	2,87 ± 0,00	1,12 ± 0,01	1,19 ± 0,00
Mirceno	991	988	2,67 ± 0,01	12,30 ± 0,01	5,01 ± 0,01	7,26 ± 0,01	20,23 ± 0,14	18,36 ± 0,01	17,56 ± 0,02	34,64 ± 0,30
α -felandreno	1002	1002	0,72 ± 0,02	2,03 ± 0,01	0,62 ± 0,02	-	4,26 ± 0,01	4,88 ± 0,02	3,38 ± 0,00	2,00 ± 0,00
σ -cimeno	1022	1022	1,63 ± 0,00	2,24 ± 0,02	0,75 ± 0,03	-	1,81 ± 0,00	0,13 ± 0,00	1,66 ± 0,02	1,56 ± 0,01
1,8-cineol	1027	1026	-	-	-	-	-	4,69 ± 0,01	0,65 ± 0,01	0,47 ± 0,01
γ -terpineno	1057	1054	0,14 ± 0,00	-	-	-	0,37 ± 0,00	0,42 ± 0,00	0,40 ± 0,02	0,27 ± 0,01
cis-hidrato de sabineno	1066	1065	0,14 ± 0,01	-	0,48 ± 0,08	-	-	0,68 ± 0,00	0,42 ± 0,23	0,32 ± 0,02
ρ -menta-3,8-dieno	1065	1068	-	-	-	-	0,52 ± 0,00	0,22 ± 0,00	-	-
Terpinoleno	1097	1086	-	-	-	-	0,44 ± 0,00	0,17 ± 0,00	-	-
Epoximirceno	1097	1090	-	-	-	-	-	0,67 ± 0,01	0,27 ± 0,00	0,27 ± 0,01
trans-hidrato de sabineno	1098	1098	0,29 ± 0,02	-	0,57 ± 0,021	-	-	-	-	-
cis-tujona	1101	1101	2,84 ± 0,01	4,28 ± 0,01	18,16 ± 0,52	-	-	-	-	-
Óxido de α -pineno	1100	1099	-	-	-	4,61 ± 0,00	5,57 ± 0,01	10,56 ± 0,01	3,07 ± 0,01	2,25 ± 0,02
trans-tujona	1116	1112	13,98 ± 0,12	-	2,60 ± 0,15	4,30 ± 0,06	-	-	-	-
Acetato 1-Octen-3-ila	1114	1110	-	-	-	-	-	-	-	0,64 ± 0,01

Tabela 1.5. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. absinthium* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente. (continuação...)

Compostos	Concentração (%)									
	IA _C	IA _T	1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)			
			D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3
<i>trans-p</i> -menta-2,8-dien-1-ol	1139	1133	-	-	1,17 ± 0,00	-	-	0,54 ± 0,00	0,37 ± 0,00	-
(<i>E</i>)-Epoxi-ocimeno	1134	1137	7,60 ± 0,01	-	0,73 ± 0,00	1,81 ± 0,00	0,53 ± 0,01	5,06 ± 0,01	-	-
<i>trans</i> -diidro-β-terpineol	1139	1134	-	-	0,98 ± 0,01	-	-	-	-	-
Neo <i>iso</i> -3-Tujanol	1145	1147	-	-	-	-	-	-	0,58 ± 0,00	-
(<i>Z</i>)-isocitral	1160	1160	6,40 ± 0,01	17,94 ± 0,02	1,81 ± 0,00	29,88 ± 0,21	1,86 ± 0,02	7,96 ± 0,01	21,56 ± 0,03	21,51 ± 0,06
Tuj-3-en-10-al	1176	1181	-	4,72 ± 0,00	7,03 ± 0,00	-	-	-	-	-
Terpinen-4-ol	1176	1174	3,22 ± 0,00	-	-	6,65 ± 0,00	-	-	-	-
Oxido de <i>trans</i> -linalool	1176	1173	-	-	-	-	2,79 ± 0,00	3,90 ± 0,00	1,48 ± 0,01	1,05 ± 0,01
α-terpineol	1191	1186	0,63 ± 0,00	-	0,83 ± 0,01	-	0,39 ± 0,01	0,72 ± 0,02	-	0,18 ± 0,02
Nerol	1230	1227	4,03 ± 0,00	4,18 ± 0,00	7,42 ± 0,01	-	0,59 ± 0,01	2,91 ± 0,00	0,89 ± 0,00	0,16 ± 0,03
Neral	1243	1235	0,52 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-
Geraniol	1254	1249	-	0,76 ± 0,00	1,42 ± 0,01	-	-	0,95 ± 0,00	0,17 ± 0,00	-
Geranial	1275	1264	-	-	1,05 ± 0,00	-	-	0,73 ± 0,00	0,53 ± 0,00	-
Formato de Nerila	1275	1280	0,68 ± 0,00	-	0,83 ± 0,00	-	-	-	-	-

Tabela 1.5. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. absinthium* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente. (continuação...)

Compostos	Concentração (%)									
	IA _C	IA _T	1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)			
			D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3
<i>Artemisia absinthium</i>										
Acetato de <i>iso</i> -bornila	1285	1283	-	0,69 ± 0,00	1,10 ± 0,00	-	-	-	-	-
Formato de Geranila	1293	1298	0,41 ± 0,03	1,13 ± 0,00	0,95 ± 0,00	-	-	-	-	-
<i>trans-p</i> -menta-8-thiol-3-ona	1357	1357	-	-	1,00 ± 0,00	-	-	-	-	-
<i>iso</i> -butanoato de linalila	1366	1373	-	-	1,10 ± 0,00	-	-	-	-	-
Acetato de nerila	1367	1359	0,26 ± 0,00	-	-	-	-	0,17 ± 0,00	-	-
Isovalerato de nerila	1366	1359	-	4,17 ± 0,00	4,16 ± 0,00	3,97 ± 0,00	2,61 ± 0,00	-	1,62 ± 0,00	-
Acetato de <i>trans</i> -mirtanol	1375	1385	0,41 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	-
(<i>E</i>)-cariofileno	1417	1417	3,75 ± 0,00	5,95 ± 0,00	4,73 ± 0,02	7,19 ± 0,01	5,85 ± 0,00	3,97 ± 0,01	4,55 ± 0,01	3,79 ± 0,01
Butanoato de linalila	1424	1421	-	2,69 ± 0,01	2,01 ± 0,00	2,10 ± 0,02	-	0,35 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,43 ± 0,01
Neril acetona	1425	1434	1,98 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	-
(<i>Z</i>)- β -farneseno	1442	1440	0,25 ± 0,00	-	0,35 ± 0,00	-	-	-	-	0,29 ± 0,00
α -humuleno	1452	1452	0,44 ± 0,00	-	0,58 ± 0,00	-	0,65 ± 0,04	0,51 ± 0,00	0,52 ± 0,00	0,37 ± 0,00
γ -muuroleno	1479	1478	4,90 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	-
γ -himachaleno	1478	1481	-	-	3,52 ± 0,00	1,21 ± 0,03	2,67 ± 0,01	3,94 ± 0,00	1,57 ± 0,00	1,46 ± 0,00
γ -curcumeno	1482	1481	-	3,23 ± 0,00	2,59 ± 0,00	-	0,96 ± 0,03	1,31 ± 0,05	-	0,37 ± 0,00
Isobutanoato de nerila	1482	1490	2,06 ± 0,00	-	-	3,35 ± 0,00	2,40 ± 0,01	1,12 ± 0,04	0,62 ± 0,01	-

Tabela 1.5. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. absinthium* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente. (continuação...)

Compostos	Concentração (%)										
			1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)				
	<i>Artemisia absinthium</i>	IA _c	IA _T	D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3
Lactato de mentila	1491	1492	-	2,39 ± 0,00	3,76 ± 0,02	-	-	-	-	-	-
Germacrene A	1516	1508	-	-	3,76 ± 0,01	-	-	-	-	-	-
Isobutanoato de geranila	1511	1514	5,47 ± 0,00	6,40 ± 0,01	2,44 ± 0,03	3,06 ± 0,01	-	-	1,53 ± 0,01	0,68 ± 0,00	
Nerolidol	1565	1561	-	-	0,27 ± 0,00	3,70 ± 0,01	-	-	-	-	
Epóxido de α -cedreno	1580	1574	-	-	0,93 ± 0,00	-	-	-	-	-	
Oxido de cariofileno	1582	1582	-	-	-	-	-	2,36 ± 0,01	0,70 ± 0,00	-	
<i>cis</i> - β -elemenona	1572	1589	-	-	-	-	-	-	-	0,71 ± 0,00	
1,3,5-bisabolatrieno-7-ol	1603	1601	-	-	-	-	-	0,32 ± 0,01	0,75 ± 0,01	-	
2-metilbutanoato de geranila	1604	1601	4,66 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	-	
<i>trans</i> - β -elemenona	1603	1601	-	-	-	-	-	-	-	0,98 ± 0,00	
Nerolato de isoamila	1603	1602	-	1,03 ± 0,00	0,93 ± 0,00	-	-	-	-	-	
Epóxido de humuleno	1603	1608	-	-	-	1,65 ± 0,00	1,13 ± 0,00	-	-	-	
(<i>Z</i>)-hidroxilinalool	1610	1619	0,88 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	0,23 ± 0,00	
β -cedren-9-ona	1630	1630	-	-	-	-	0,80 ± 0,00	-	-	-	
Epóxido de allo-aromadendren	1627	1639	1,03 ± 0,02	-	-	-	-	-	-	-	
Cariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol	1637	1639	-	-	-	-	-	0,45 ± 0,03	-	0,20 ± 0,03	
Selina-3,11-dien-6 α -ol	1643	1642	1,06 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	-	
2- <i>epi</i> β -cedren-3-ona	1642	1643	-	-	-	0,68 ± 0,00	1,22 ± 0,00	-	1,50 ± 0,01	0,36 ± 0,02	
α -muurolol	1643	1644	-	1,22 ± 0,03	0,45 ± 0,01	-	-	-	-	-	
Selin-11-en-4 α -ol	1660	1658	3,85 ± 0,01	4,47 ± 0,00	2,54 ± 0,04	-	-	-	-	-	
Eudesmol	1659	1661	-	-	-	0,61 ± 0,01	4,68 ± 0,01	0,62 ± 0,01	1,52 ± 0,00	0,72 ± 0,00	
Acetato de longiborneol	1695	1684	2,36 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	-	

α -bisabolol	1687	1685	-	-	-	-	-	0,61 \pm 0,00	-	-
8-cedren-13-ol	1691	1688	0,35 \pm 0,00	-	0,85 \pm 0,00	1,80 \pm 0,01	-	0,88 \pm 0,00	1,70 \pm 0,00	0,35 \pm 0,00
γ -curcumen-15-al	1766	1766	-	-	-	-	-	0,22 \pm 0,00	-	0,19 \pm 0,00
8S,13-cedrano-diol	1910	1897	-	-	-	-	-	-	-	0,15 \pm 0,00
Cembreno A	1953	1947	-	-	-	0,53 \pm 0,00	2,37 \pm 0,12	0,90 \pm 0,00	-	0,70 \pm 0,00
7-hydroxi-4,8-dimetil-Cumarina	2010	2013	-	-	-	2,31 \pm 0,00	7,14 \pm 0,08	-	-	-
Acetato de (<i>E</i>)-fitol	2216	2218	-	-	-	-	-	-	-	0,30 \pm 0,00
Total (%)			84,28	85,30	95,70	86,67	89,62	95,34	91,46	94,98

IAC= índice aritmético calculado; IAT= índice aritmético tabelado; DAT= dias após o transplante; D0= dose de NPK sem adubação; D1= dose 50% indicada; D2=dose de adubação conforme a análise de solo; D3= dose indicada acrescida de 50%.

Tabela 1.6. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. camphorata* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente.

Compostos	Concentração (%)									
			1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)			
<i>Artemisia camphorata</i>	IA _C	IA _T	D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3
Canfeno	943	946	-	-	0,27 ± 0,00	-	1,53 ± 0,00	1,52 ± 0,00	1,54 ± 0,01	1,87 ± 0,01
Sabineno	970	970	-	-	-	-	0,44 ± 0,00	0,36 ± 0,00	0,36 ± 0,00	0,41 ± 0,00
α-terpineno	1014	1014	0,50 ± 0,00	1,00 ± 0,01	0,64 ± 0,01	-	1,84 ± 0,00	1,33 ± 0,00	1,34 ± 0,01	1,46 ± 0,00
σ-cimeno	1022	1022	1,17 ± 0,00	2,09 ± 0,00	1,55 ± 0,00	0,76 ± 0,00	2,98 ± 0,00	4,02 ± 0,00	3,93 ± 0,00	4,72 ± 0,00
1,8-cineol	1028	1026	8,12 ± 0,11	13,45 ± 0,15	10,84 ± 0,14	12,01 ± 0,12	9,28 ± 0,00	12,43 ± 0,04	12,26 ± 0,00	14,64 ± 0,05
γ-terpineno	1066	1054	-	-	-	-	0,38 ± 0,00	0,36 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,45 ± 0,00
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1066	1065	0,30 ± 0,00	-	-	0,54 ± 0,00	-	-	-	-
ρ-menta-3,8-dieno	1065	1068	-	0,48 ± 0,00	0,18 ± 0,00	-	0,25 ± 0,00	-	-	0,19 ± 0,00
Terpinoleno	1096	1086	-	0,93 ± 0,00	0,51 ± 0,00	-	0,46 ± 0,00	-	-	-
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1096	1098	-	-	-	1,11 ± 0,00	-	-	-	-
<i>cis</i> -tujona	1097	1101	0,62 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -p-menta-2,8-dien-1-ol	1120	1119	0,82 ± 0,00	0,94 ± 0,06	1,00 ± 0,03	1,11 ± 0,00	0,69 ± 0,00	0,38 ± 0,00	0,30 ± 0,00	0,35 ± 0,00
<i>cis</i> -β-terpineol	1139	1140	-	5,38 ± 0,04	0,77 ± 0,01	-	-	0,67 ± 0,04	0,72 ± 0,01	0,79 ± 0,02
Cânfora	1144	1141	3,60 ± 0,00	0,20 ± 0,01	5,06 ± 0,02	6,72 ± 0,06	3,05 ± 0,10	3,84	4,35 ± 0,21	4,38 ± 0,52
Borneol	1165	1165	-	-	-	-	0,15 ± 0,00	8,65 ± 0,09	10,23 ± 0,08	9,57 ± 1,02
Pinocanfeol	1166	1166	10,96 ± 0,21	11,85 ± 0,32	11,69 ± 0,21	14,11 ± 0,52	-	-	-	-
Terpinen-4-ol	1176	1174	1,51 ± 0,00	1,85 ± 0,00	1,55 ± 0,00	2,25 ± 0,01	-	-	-	-
<i>iso</i> -pinocanfeol	1175	1176	-	-	-	--	9,03 ± 0,02	1,21 ± 0,04	1,40 ± 0,01	1,27 ± 0,00
γ-terpineol	1208	1199	0,53 ± 0,00	0,61 ± 0,00	0,57 ± 0,00	0,63 ± 0,00	0,51 ± 0,00	0,37 ± 0,00	-	0,36 ± 0,00

Tabela 1.6. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. camphorata* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente. (continuação...)

Ascaridol	1239	1234	13,70 ± 0,12	16,44 ± 0,10	17,88 ± 0,21	24,76 ± 0,26	10,26 ± 0,15	10,74 ± 0,14	10,37 ± 0,31	11,07 ± 0,12
Epoxido de <i>cis</i> -piperitona	1255	1250	-	1,03 ± 0,00	0,54 ± 0,00	0,79 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,43 ± 0,00	0,45 ± 0,00	0,41 ± 0,00
Epoxido <i>trans</i> -piperitona	1257	1252	1,04 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,54 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,63 ± 0,00	0,46 ± 0,00	0,42 ± 0,00	0,57 ± 0,00
Acetato de bornila	1285	1284	0,63 ± 0,00	0,72 ± 0,00	0,66 ± 0,00	0,49 ± 0,00	0,28 ± 0,00	0,64 ± 0,00	0,78 ± 0,00	0,66 ± 0,00
Acetato de mentila	1298	1294	-	-	-	0,68 ± 0,00	-	-	-	-
<i>ρ</i> -ment-1-en-9-ol	1306	1294	0,57 ± 0,00	1,06 ± 0,00	1,00 ± 0,00	-	-	-	-	-
Acetato de <i>iso</i> -mentila	1305	1304	-	-	-	1,69 ± 0,09	0,67 ± 0,02	0,62 ± 0,01	0,68 ± 0,01	0,67 ± 0,01
Undec-9Z-en-1-al	1322	1322	0,79 ± 0,00	-	0,38 ± 0,03	-	0,52 ± 0,01	0,56 ± 0,00	0,51 ± 0,02	0,50 ± 0,01
<i>E</i> - cariofileno	1418	1417	1,26 ± 0,03	0,95 ± 0,01	1,00 ± 0,08	0,45 ± 0,00	1,41 ± 0,04	1,16 ± 0,05	0,99 ± 0,06	0,98 ± 0,07
<i>α</i> -humuleno	1451	1452	0,34 ± 0,01	0,25 ± 0,00	0,24 ± 0,00	-	0,36 ± 0,00	0,31 ± 0,07	0,26 ± 0,01	0,27 ± 0,01
Germacreno D	1480	1484	4,16 ± 0,03	2,93 ± 0,06	2,85 ± 0,02	1,27 ± 0,02	5,06 ± 0,12	4,20 ± 0,06	3,74 ± 0,04	3,28 ± 0,09
<i>cis</i> - <i>β</i> -guaiano	1494	1492	-	-	-	-	0,46 ± 0,03	0,39 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,30 ± 0,01
<i>cis</i> -cadina-1,4-dieno	1495	1495	-	0,29 ± 0,00	0,27 ± 0,00	-	-	-	-	-
Biciclogermacreno	1504	1500	0,39 ± 0,02	-	-	-	-	-	-	-
<i>γ</i> -patchouleno	1504	1502	0,83 ± 0,02	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> - <i>β</i> -guaiano	1516	1502	0,45 ± 0,00	0,63 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,44 ± 0,00	0,81 ± 0,00	0,81 ± 0,00	0,75 ± 0,00	0,72 ± 0,00
<i>trans</i> -cicloisolongifol-5-ol	1523	1513	5,79 ± 0,03	-	-	-	0,46 ± 0,00	0,42 ± 0,00	0,37 ± 0,00	-
<i>α</i> -himachaleno	1516	1516	-	0,35 ± 0,00	0,38 ± 0,00	-	-	-	-	0,37 ± 0,01
<i>α</i> -chamigreno	1522	1503	-	4,37 ± 0,04	4,96 ± 0,05	3,74 ± 0,02	5,74 ± 0,05	5,82 ± 0,12	5,57 ± 0,15	5,47 ± 0,14
8,14-óxido de cedrano	1536	1540	1,23 ± 0,01	-	-	-	1,22 ± 0,01	1,21 ± 0,01	1,39 ± 0,01	-
Selina-3,7(11)-dieno	1550	1545	2,74 ± 0,01	0,72 ± 0,00	2,23 ± 0,01	1,58 ± 0,01	2,53 ± 0,01	2,47 ± 0,01	2,47 ± 0,01	2,42 ± 0,01
Elemicina	1553	1555	-	1,68 ± 0,01	20,19 ± 0,11	-	-	-	-	-
(<i>E</i>)-Isoelemicin	1574	1568	-	-	-	14,51 ± 0,15	-	-	-	-
(<i>Z</i>) - Isoelemicina	1577	1568	-	-	-	1,76 ± 0,01	-	-	-	-

γ -Undecalactona	1559	1569	2,35 ± 0,01	1,72 ± 0,01	0,73 ± 0,00	-	-	-	-	2,52 ± 0,01
Germacreno D-4-ol	1577	1574	25,76 ± 0,23	-	-	-	2,43 ± 0,03	21,86 ± 0,25	21,35 ± 0,30	19,46 ± 0,22
<i>cis</i> - β -Elemenona	1584	1589	2,84 ± 0,01		2,29 ± 0,03		24,05	2,66		
Óxido de cariofileno	1577	1582		-	-	-	-	-	2,56 ± 0,01	
<i>trans</i> - β -elemenona	1595	1597	-	-	-	-	2,72 ± 0,01	0,51 ± 0,00	-	-
Guaiol	1595	1600	-	-	-	-	-	-	-	0,42 ± 0,00
2,(7Z)-Bisaboladien-4-ol	1618	1617	-	-	0,46 ± 0,00		0,56 ± 0,00	0,35 ± 0,01	0,47 ± 0,00	-
Cariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol	1637	1639	1,33 ± 0,00	0,21 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,78 ± 0,00	0,37 ± 0,00	1,30 ± 0,00	0,34 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Cedr-8(15)-en-10-ol	1657	1650	-	0,89 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
Oxido de α -bisabolol B	1657	1656	-	-	-	0,60 ± 0,00	1,54 ± 0,00	-	-	-
Bisabol-11-ol	1661	1668	-	-	-	0,28 ± 0,00	0,42 ± 0,00	-	1,33 ± 0,00	-
5- <i>iso</i> -Cedranol	1657	1672	-	-	-	-	-	-	0,90 ± 0,00	-
β -Bisabolol	1673	1674	-	-	-	-	-	-	-	0,33 ± 0,00
α -bisabolol	1685	1685	0,42 ± 0,00	0,37 ± 0,00	0,58 ± 0,00	-	0,18 ± 0,00	0,54 ± 0,00	0,44 ± 0,00	0,21 ± 0,00
2,3-diidro-Farnesol	1685	1688	0,23 ± 0,00	-	-		-	-	-	-
Oxido de α -bisabolol A	1747	1748	-	-	-	0,38 ± 0,00	0,31 ± 0,00	0,28 ± 0,00	0,23 ± 0,00	-
Total %			95,34	74,43	93,49	94,54	94,48	93,25	93,55	92,50

IA_C= índice aritmético calculado; IA_T= índice aritmético tabelado; TR= Tempo de retenção (min.); DAT= dias após o transplante; D0= dose de NPK sem adub 50% indicada; D2=dose de adubação conforme a análise de solo; D3= dose indicada acrescida de 50%

Tabela 1.7. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. dracunculus* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente.

Compostos	Concentração (%)									
	<i>Artemisia dracunculus</i>	IA _C	IA _T	1ª colheita (60 DAT)			2ª colheita (125 DAT)			
				D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2
β -pineno	969	974	-	14,61 ± 0,15	21,83 ± 0,10	17,56 ± 0,08	18,83 ± 0,19	25,67 ± 0,05	25,27 ± 0,42	23,78 ± 0,32
Mirceno	990	988	-	1,07 ± 0,00	1,19 ± 0,00	1,11 ± 0,01	1,09 ± 0,01	1,56 ± 0,01	0,88 ± 0,01	1,14 ± 0,01
α -terpineno	1014	1014	-	0,20 ± 0,00	0,24 ± 0,00	-	-	0,29 ± 0,00	0,27 ± 0,00	0,45 ± 0,00
Limoneno	1025	1024	-	0,66 ± 0,00	0,56 ± 0,00	0,55 ± 0,00	0,52 ± 0,00	0,45 ± 0,00	0,36 ± 0,00	0,62 ± 0,00
(Z)- β -ocimeno	1037	1032	-	1,90 ± 0,00	2,28 ± 0,00	2,06 ± 0,01	2,01 ± 0,01	2,34 ± 0,01	3,04 ± 0,01	1,87 ± 0,01
(E)- β -ocimeno	1047	1044	-	2,62 ± 0,00	2,60 ± 0,01	2,56 ± 0,01	2,28 ± 0,01	2,90 ± 0,01	1,89 ± 0,01	2,32 ± 0,01
γ -terpineno	1056	1054	-	0,67 ± 0,00	0,70 ± 0,00	0,78 ± 0,00	0,53 ± 0,00	0,75 ± 0,00	0,72 ± 0,00	0,78 ± 0,00
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1066	1065	-	-	-	-	-	0,35 ± 0,00	0,33 ± 0,00	0,43 ± 0,00
ρ -menta-3,8-dieno	1065	1068	-	0,48 ± 0,00	0,32 ± 0,00	-	-	-	-	-
ρ -menta-2,4(8)-dieno	1086	1085	-	0,14 ± 0,00	0,17 ± 0,00	-	-	-	-	-
Terpinoleno	1086	1086	-	0,32 ± 0,00	0,23 ± 0,00	-	-	-	-	0,33 ± 0,00
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1098	1098	-	-	-	-	-	-	-	0,41 ± 0,00
1-Terpineol	1120	1130	-	0,19 ± 0,00	0,22 ± 0,00	-	-	-	-	-
Tujanol	1175	1164	-	-	-	-	-	1,83 ± 0,01	2,17 ± 0,01	2,58 ± 0,01
Terpinen-4-ol	1175	1174	3,15 ± 0,00	3,15 ± 0,02	2,52 ± 0,01	3,07 ± 0,01	2,16 ± 0,01	-	-	-
α -terpineol	1190	1186	-	0,18 ± 0,00	0,16 ± 0,00	-	-	-	-	-
Metil chavicol	1198	1195	-	0,43 ± 0,00	0,31 ± 0,01	-	-	-	-	-
γ -terpineol	1198	1199	-	-	-	-	-	-	0,48 ± 0,00	-
Acetato de citronelila	1355	1350	1,60 ± 0,01	1,15 ± 0,01	1,08 ± 0,00	1,02 ± 0,01	1,42 ± 0,03	1,61 ± 0,01	1,04 ± 0,01	1,08 ± 0,01
Acetato de geranila	1386	1379	0,52 ± 0,01	0,55 ± 0,00	0,60 ± 0,00	0,57 ± 0,00	0,63 ± 0,01	0,51 ± 0,01	0,77 ± 0,01	0,66 ± 0,01
Metileugenol	1414	1403	89,30 ± 0,23	68,24 ± 0,50	60,88 ± 0,52	64,09 ± 0,85	61,49 ± 0,99	54,31 ± 1,02	57,05 ± 0,75	58,61 ± 0,63
<i>trans</i> -cadina-1(6),4-dieno	1479	1475	-	1,34 ± 0,00	1,45 ± 0,00	1,68 ± 0,02	2,06 ± 0,08	1,64 ± 0,02	1,55 ± 0,04	1,52 ± 0,01

Germacreno D	1481	1484	2,04 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-
(E)-Metil isoeugenol	1502	1491	0,55 ± 0,00	0,91 ± 0,01	0,31 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,74 ± 0,01	0,43 ± 0,01	1,23 ± 0,02	-
α -selineno	1495	1498	-	-	0,91	1,04 ± 0,01	1,40 ± 0,02	1,14 ± 0,01	1,05 ± 0,01	1,20 ± 0,03
Biciclogermacreno	1496	1500	1,30 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-
δ -cadineno	1523	1522	-	0,16 ± 0,00	-	-	-	-	0,47 ± 0,01	0,43 ± 0,01
(E)-isoelemicina	1561	1568	-	-	-	-	2,73 ± 0,01	3,64 ± 0,06	-	-
(Z)-apofarnesol	1560	1571	-	0,11 ± 0,00	0,32 ± 0,00	0,58 ± 0,01	-	-	-	-
(E)-asarona	1657	1675	2,09 ± 0,02	0,22 ± 0,00	1,39 ± 0,00	2,75 ± 0,01	1,18 ± 0,01	-	-	1,69 ± 0,02
Total %			99,55	99,41	99,98	99,67	99,07	99,42	98,57	99,90

IA_C= índice aritmético calculado; IA_T= índice aritmético tabelado; TR= Tempo de retenção (min.); DAT= dias após o transplante; D0= dose de NPK sem adub 50% recomendada; D2=dose de adubação conforme a análise de solo; D3= dose recomendada acrescida de 50%

Tabela 1.8. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. vulgaris* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente.

Compostos	Concentração (%)										
			1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)				
	<i>Artemisia vulgaris</i>	IA _C	IA _T	D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3
β -pineno	969	974	-	-	0,43 \pm 0,01	0,33 \pm 0,00	-	-	-	-	-
(3E)-octen-2-ol	990	988	-	3,10 \pm 0,02	2,39 \pm 0,01	2,29 \pm 0,01	26,54 \pm 2,50	-	3,19 \pm 0,05	2,95 \pm 0,01	-
σ -cimeno	1023	1022	-	-	0,49 \pm 0,00	0,39 \pm 0,00	1,54 \pm 0,00	-	-	-	-
1,8-cineol	1025	1024	-	14,38 \pm 0,10	20,33 \pm 0,87	21,24 \pm 0,89	18,86 \pm 0,98	14,05 \pm 1,03	19,06 \pm 0,99	23,97 \pm 1,85	-
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1066	1065	1,79 \pm 0,01	2,84 \pm 0,02	-	-	3,54 \pm 0,02	1,82 \pm 0,00	-	1,54 \pm 0,00	-
ρ -menta-3,8-dieno	1066	1068	-	-	1,29 \pm 0,01	1,09 \pm 0,00	-	-	1,61 \pm 0,01	-	-
Terpinoleno	1097	1086	-	-	1,27 \pm 0,01	1,21 \pm 0,00	-	2,19 \pm 0,02	-	-	-
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1100	1098	2,40 \pm 0,01	2,98 \pm 0,01	-	-	0,54 \pm 0,00	-	1,89 \pm 0,01	2,02 \pm 0,01	-
<i>cis</i> -tujona	1104	1101	-	1,02 \pm 0,01	0,80 \pm 0,00	0,76 \pm 0,00	-	-	1,03 \pm 0,00	1,05 \pm 0,00	-
<i>trans</i> -tujona	1116	1112	20,03 \pm 0,23	29,08 \pm 0,31	25,04 \pm 0,85	27,04 \pm 0,25	15,76 \pm 0,99	29,76 \pm 1,05	31,05 \pm 1,21	31,59 \pm 0,99	-
<i>trans-p</i> -menta-2,8-dien-1-ol	1120	1119	3,62 \pm 0,12	5,01 \pm 0,02	3,06 \pm 0,01	1,06 \pm 0,00	-	3,22 \pm 0,05	2,51 \pm 0,01	3,05 \pm 0,05	-
<i>cis-p</i> -menta-2,8-dien-1-ol	1139	1133	-	3,52 \pm 0,04	-	-	-	4,81 \pm 0,05	3,64 \pm 0,07	-	-
<i>trans</i> -pinocarveol	1135	1135	4,85 \pm 0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-epoxiocimeno	1135	1137	-	4,48 \pm 0,02	-	-	-	2,99 \pm 0,02	2,56 \pm 0,00	3,10 \pm 0,03	-
<i>trans</i> -sabinol	1140	1137	5,71 \pm 0,05	6,11 \pm 0,05	-	-	-	-	-	-	-
Cânfora	1141	1141	-	-	5,57 \pm 0,05	3,57 \pm 0,05	-	2,23 \pm 0,02	1,59 \pm 0,01	5,83 \pm 0,05	-
ρ -ment-3-en-8-ol	1144	1145	2,66 \pm 0,01	-	2,44 \pm 0,01	1,47 \pm 0,00	-	-	-	2,23 \pm 0,01	-

Tabela 1.8. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. vulgaris* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente. (continuação...)

Compostos	Concentração (%)									
			1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)			
	<i>Artemisia vulgaris</i>	IA _C	IA _T	D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2
Óxido de β -pineno	1154	1154	-	2,37	1,38 \pm 0,00	1,08 \pm 0,21	-	1,81 \pm 0,14	1,66 \pm 0,21	1,54 \pm 0,00
Pinocarvona	1154	1160	2,28 \pm 0,03	0,61 \pm 0,00	1,30 \pm 0,00	0,24 \pm 0,00	3,81 \pm 0,12	-	0,67 \pm 0,00	-
Borneol	1164	1165	3,12 \pm 0,01	3,14 \pm 0,06	2,71 \pm 0,32	1,55 \pm 0,65	5,76 \pm 0,14	1,53 \pm 0,00	1,15 \pm 0,00	1,47 \pm 0,00
Pinocanfeol	1166	1166	-	-	-	-	-	-	0,61 \pm 0,00	-
Terpinen-4-ol	1176	1174	2,12 \pm 0,00	6,89 \pm 0,06	4,60 \pm 0,52	1,87 \pm 0,26	-	4,40 \pm 0,36	3,04 \pm 0,41	4,23 \pm 0,52
α -terpineol	1186	1186	-	2,32 \pm 0,02	-	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -pinocarveol	1188	1182	3,45 \pm 0,08	-	-	-	8,76 \pm 0,21	-	-	-
<i>trans-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	1187	1187	-	1,72 \pm 0,01	1,94 \pm 0,00	1,84 \pm 0,02	-	2,43 \pm 0,00	1,20 \pm 0,00	1,29 \pm 0,00
Mirtenal	1190	1195	-	-	1,37 \pm 0,00	1,47 \pm 0,03	-	1,99 \pm 0,01	1,53 \pm 0,00	1,90 \pm 0,00
Mirtenol	1196	1194	4,56 \pm 0,10	3,01 \pm 0,05	0,51 \pm 0,00	0,39 \pm 0,00	10,43 \pm 0,51	-	1,41 \pm 0,00	1,90 \pm 0,00
<i>trans</i> -diidro carvona	1201	1200	-	1,18 \pm 0,00	0,31 \pm 0,00	0,11 \pm 0,00	-	-	-	-
Verbenona	1209	1204	-	-	0,66 \pm 0,00	0,56 \pm 0,00	-	-	-	-
<i>trans</i> -carveol	1221	1215	-	1,19 \pm 0,03	0,80 \pm 0,00	0,76 \pm 0,00	-	-	-	-
<i>cis</i> -carveol	1229	1226	5,33 \pm 0,91	1,66 \pm 0,02	-	-	-	-	-	-
<i>cis-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	1229	1227	-	-	0,18 \pm 0,00	0,15 \pm 0,00	-	-	0,67 \pm 0,00	1,03 \pm 0,00
α -copaeno	1373	1374	-	-	0,27 \pm 0,00	0,37 \pm 0,00	-	-	-	-
(<i>E</i>)-cariofileno	1417	1417	2,25 \pm 0,01	0,84 \pm 0,00	5,37 \pm 0,08	7,77 \pm 0,82	26,87 \pm 1,02	9,38 \pm 0,16	6,30 \pm 0,62	3,35 \pm 0,25
α -humuleno	1452	1452	-	-	0,72 \pm 0,01	0,71 \pm 0,00	1,64 \pm 0,00	2,40 \pm 0,84	1,53 \pm 0,00	0,90 \pm 0,00
(<i>E</i>)- β -farneseno	1457	1454	2,49 \pm 0,03	0,84 \pm 0,04	4,54 \pm 0,06	5,14 \pm 0,77	12,56 \pm 0,98	4,38 \pm 0,75	3,26 \pm 0,85	2,11 \pm 0,62

Tabela 1.8. Identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *A. vulgaris* (D0, D1, D2, e D3) em duas épocas de colheitas usando cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa-detector de ionização de chamas (CG-DIC), respectivamente. (continuação...)

Compostos	Concentração (%)										
	<i>Artemisia vulgaris</i>	IA _C	IA _T	1ª colheita (60 DAT)				2ª colheita (125 DAT)			
				D0	D1	D2	D3	D0	D1	D2	D3
<i>trans</i> -cadinina-1(6),4-dieno	1479	1475	-	-	-	-	-	9,15 ± 1,01	-	4,16 ± 0,00	
Germacrene D	1480	1484	3,96 ± 0,01	1,11 ± 0,03	6,21 ± 0,09	7,98 ± 0,11	9,56 ± 0,41	-	6,04 ± 0,41	-	
Biciclogermacreno	1496	1500	-	-	0,64 ± 0,01	0,66 ± 0,01	-	-	-	-	
(<i>E,E</i>)- α -farneseno	1504	1505	-	-	0,79 ± 0,01	0,79 ± 0,01	-	-	0,41 ± 0,11	-	
γ -cadineno	1513	1513	-	-	0,15 ± 0,00	0,19 ± 0,00	-	-	-	-	
δ -cadineno	1523	1522	-	-	0,26 ± 0,00	0,26 ± 0,00	-	-	0,43 ± 0,21	-	
Nerolidol	1565	1561	1,94 ± 0,11	-	0,69 ± 0,01	0,63 ± 0,03	6,34 ± 0,31	-	-	-	
Óxido de cariofileno	1577	1582	2,43 ± 0,23	-	0,32 ± 0,00	0,38 ± 0,05	7,23 ± 0,62	-	-	-	
(<i>E</i>)-diidro-apofarnesol	1584	1590	1,33 ± 0,45	-	-	-	2,65 ± 0,01	-	0,99 ± 0,21	-	
β -cedren-9-ona	1630	1630	2,27 ± 0,09	-	-	-	3,76 ± 0,04	-	-	-	
Carciofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol	1638	1639	2,01 ± 0,08	-	0,32 ± 0,01	0,22 ± 0,01	8,65 ± 0,11	-	-	-	
α -cadinol	1657	1652	0,62 ± 0,01	-	0,24 ± 0,00	0,21 ± 0,01	1,32 ± 0,01	-	-	-	
Germacrona	1692	1693	2,53 ± 0,01	-	-	-	2,54 ± 0,04	-	-	-	
Total %			89,75	99,40	98,8	96,28	93,54	98,54	97,14	99,19	

IA_C= índice aritmético calculado; IA_T= índice aritmético tabelado; TR= Tempo de retenção (min.); DAT= dias após o transplante; D0= dose de NPK sem adubação; D1= dose 50% indicada; D2=dose de adubação conforme a análise de solo; D3= dose indicada acrescida de 50%.

2.4. CONCLUSÃO

As características botânico-agronômicas nas condições experimentais deste trabalho foram favorecidas com a adubação NPK nas duas colheitas em todas as espécies avaliadas. No entanto, ressaltamos que o excesso de fertilizante (D3) aumentou a produção de biomassa somente em *A. dracunculus*. Nas demais espécies verificou-se redução na produção de biomassa na colheita aos 125 DAT o que pode estar relacionado com o período de senescência da planta.

O maior rendimento de óleo essencial foi obtido nas espécies *A. dracunculus* e *A. camphorata* aos 125 DAT. As espécies *A. vulgaris* e *A. absinthium* tiveram um rendimento baixo neste período.

Os constituintes tiveram influencia da adubação e alterações na rota biossintética favorecendo o aparecimento de determinado constituinte, alterando a composição do óleo essencial nas doses de adubação.

2.5. REFERÊNCIAS

- Adams, R.P. (2007) Identification of essential oil components by gas chromatography /mass spectrometry. 4^a. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, USA.
- Aftab, T., Khan, M.M.A., Naeem, M., Idrees, M., Siddiqi, T.O., Varshney, L. Effect of irradiated sodium alginate and phosphorus on biomass and artemisinin production in *Artemisia annua*. Carbohydrate Polymers. 2014. v.110, p.396–404.
- Ahmad, A.A., Malik, J., Mir, S.R., Ali, M., Abdin, M.Z. Influence of chemical and biological treatments on volatile oil composition of *Artemisia annua* Linn. Industrial Crops and Products. 2009, v.30, p.380–383.
- Araújo, C.B., Santos, A., Fernandes, L., Martins, E.R., Sampaio, R.A., Costa, C.A., Leite, G.L.D. Uso da adubação orgânica e cobertura morta na cultura da calêndula (*Calendula officinalis* L.). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2009, v.18, p.117–123.
- Bailen, M., Julio, L.F., Diaz, C.E., Sanz, J., Martínez-Díaz, R.A., Cabrera, R., Burillo, J., Gonzalez-Coloma, A. Chemical composition and biological

- effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L. cultivated under different environmental conditions. *Industrial Crops and Products*. **2013**, v.49, p.102–107.
- Balunas, M.J., Kinghorn, A.D. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*. **2005**, v.78 p.431–441.
- Bamoniri, A., Mirjalili, B.B.F., Mazoochi, A., Batooli, H. Chemical composition of *Artemisia vulgaris* L. from Kashan area isolated by nano scale injection. *Iran. Journal Organics Chemistry*. **2010**, v.2, p.533–536.
- Bamoniri, A., Mirjalili, B.B.F., Mazoochi, A., Batooli, H. Chemical composition of *Artemisia vulgaris* L. from Kashan area isolated by nano scale injection. *Iran. Journal Organics Chemistry*. **2010**, v.2, p.533–536.
- Barbosa, L.C.A., Pereira, U.A., Martinazzo, A.P., Maltha, C.R.A., Teixeira, R.R., Melo, E.D.C., 2008. Evaluation of the chemical composition of Brazilian commercial *Cymbopogon citratus* (D.C.) stapf samples. *Molecules*. **2008**, v.13, p.1864–1874.
- Barros, F. M. C., Mallmann, C.A., Heinzmann, B.M. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **2009**, v.32, n.4, p.861–867.
- Benedetti, E.L., Serrat, B.M., Santin, D., Brondani, G.E., Reissmann, C.B., Biasi, L.A. Calagem e adubação no crescimento de espinheira-santa [*Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch.] em casa de vegetação. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. **2009**, v.11, p.269–276.
- Castro, H.G., Casali, V.W.D., Cecon, P.R. Crescimento inicial e épocas de colheita em seis acessos de *Baccharis myriocephala* D.C. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, **1999**, v. 2, p.1-6.
- Castro, H.G., Ferreira, F.A., Silva, D.J.H., Ribeiro Júnior, J.I. Análise do crescimento de acessos de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) em dois ambientes. *Revista Ciência Agronômica*. **2006**, v.37, p.44-49.
- Cavar, S., Maksimovi, M., Vidic, D., Paric, A. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. *Industrial Crops and Products*. **2012**, v.37, p.479–485.
- Chauhan, R.S., Kitchlu, S., Ram, G., Kaul, M.K., Tava, A. Chemical composition of capillene chemotype of *Artemisia dracuncululus* L. from

North-West Himalaya, India. *Industrial Crops and Products*. **2010**, v.31, p. 546–549.

Corrêa, R.M., Pinto, J.E.B.P., Reis, E.S., Costa, L.C.B., Alves, P.B., Niculan, E.S., Brant, R.S. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. **2010**, v.12, p.80–89.

Darwish, M.S.A., Cabral, C., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T. *Artemisia herba-alba* essential oil from Buseirah (South Jordan): Chemical characterization and assessment of safe antifungal and anti-inflammatory doses. *Journal of ethnopharmacology*. **2015**, v.174, p.153–160.

Erel, S.B., Reznicek, G., Senol, S.G., Yavasogulu, N.U.K., Konyalioglu, S., Zeybek, A.U. Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia, Turk. *Journal Biology*. **2012**, v.36, p.75–84.

Garlet, T.M.B., Santos, O.S., Medeiros, S.L.P., Manfron, P.A., Garcia, D.C., Borcioni E., Fleig, V. Produção e qualidade do óleo essencial de menta em hidroponia com doses de potássio. *Ciência Rural*. **2007**, v.37, n.4, p. 956–962.

Gobbo-Neto, L., Lopes, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*. **2007**, v.30, p.374–381.

Herrmann, S., Jessing, K.K., Jørgensen, N.O.G., Cedergreen, N., Kandeler, E., Strobel, B.W. Distribution and ecological impact of artemisinin derived from *Artemisia annua* L. in an agricultural ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*. **2013**, v.57, p.164–172.

Karimi, A., Hadian, J., Farzaneh, M., Khadivi-khub, A. Phenotypic diversity and volatile composition of Iranian *Artemisia dracunculus*. *Industrial Crops and Products*. **2015**, v.65, p.315–323.

Larcher, W. *Ecofisiologia Vegetal*, São Carlos: Rima. **2000**, 531p.

Lopes-Lutz, D., Alviano, D.S., Alviano, C.S., Kolodziejczyk, P.P. Phytochemistry Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities

- of *Artemisia* essential oils. *Industrial Crops and Products*. **2008**, v.69, p.1732–1738.
- Lorenzi, H., Matos, F.J.A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, Brasil. **2002**.
- Lubbe, A., Verpoorte, R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products*. **2011**, v.34, p.785–801.
- Lutz, D.L., Alviano, D.S., Alviano, C.S., Kolodziejczyk, P.P. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, **2008**. v.69, p.1732–1738.
- Luz, L.A., Armas, R.C. Cultivo, cosecha y procesamiento poscosecha de *Artemisia annua* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, **2010**. v.15, p.75–95.
- Mapeli, N.C., Vieira, M.D.C., Heredia, Z.N.A., Siqueira, J.M. Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. *Horticultura Brasileira*. **2005**, v.23, p.32–37.
- Marco, C.A., Innecco, R., Mattos, S.H., Borges, N.S.S., Filho, S.M. Influência de espaçamento, altura e época de corte no rendimento da biomassa e óleo essencial na cultura de capim citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.). *Revista Ciência Agronômica*. **2008**, v.37, p.32–36.
- Melo, G.W.B., Sete, P.B., Ambrosini, V.G., Freitas, R.F., Basso, A., Brunetto, G. Nutritional status, yield and composition of peach fruit subjected to the application of organic compost. *Acta Scientiarum Agronomy*. **2016**, v.38, p. 103-106.
- Moreira, M.D., Picanço, M.C., Barbosa, L.C.A., Guedes, R.N.C., Barros, E.C., Campos, M.R. Compounds from *Ageratum conyzoides*: isolation, structural elucidation and insecticidal activity. *Pest Management Science*. **2007**, v.63, p.1254-1261.
- Msaada, K., Salem, N., Bachrouch, O., Bousselmi, S., Tammar, S., Alfaify, A., Sane, K.A.I., Ammar, W.B., Azeiz, S., Brahim, A.H., Hammami, M., Selmi, S., Limam, F., Marzouk, B. Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) Essential Oils and Phenolics. *Journal of Chemistry*. **2015**, v.15, p.1-12.

- Orav, A.A., Raalb, A., Arakb, E., Müüriseppa, M., Kailasa, T. Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L, of different geographical origin, Proc. Estonian Acad. Sci. Chem. **2006**, v.55, p.155–165.
- Ozguven, M., Sener, B., Orhan, I., Sekeroglu, N., Kirpik, M., Kartal, M., Pesin, I., Kaya, Z. Effects of varying nitrogen doses on yield, yield components and artemisinin content of *Artemisia annua* L. Industrial Crops and Products. **2008**, v.27, p.60–64.
- Pegoraro, R.L., Falkenberg, M.B., Voltolini, C.H., Santos, M., Paulilo, M.T.S. Produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição do substrato. Revista Brasileira de Botânica. **2010**, v.33, p.631–637.
- Pellicer, J., Garcia, S., Garnatge, T., Hidalgo, O., Siljak-Yakovlev, S., Vallès, J. Molecular cytogenetic characterization of some representatives of the subgenus *Artemisia Absinthium* (genus *Artemisia*, Asteraceae). Collectanea Botanica. **2008**, v.27, p.19–27.
- Phillipson J.D. Phytochemistry and medicinal plants. **2001**, v.56, p.237–243.
- Raut, J.S., Karuppayil, S.M. A status review on the medicinal properties of essential oils. Industrial Crops and Products. **2014**, v.62, p.250–264.
- Ribeiro, A.C., Guimarães, P.T.G.G., Alvarez, V.H.V. **1999**. Comissão de Fertilidade do solo do Estado de Minas Gerais. Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª Aproximação. Viçosa, MG, Brasil.
- Rodrigues, D.S., Camargo, M.S., Nomura, E.S., Garcia, V.A., Correa, J.N., Vidal, T.C.M. Influencia da adubação com nitrogênio e fósforo na produção de Jambu, *Acmella oleracea* (L) R.K. Jansen. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. **2014**, v.16, n.1, p. 71–76.
- Seixas, P.T.L., Castro, H.G., Cardoso, D.P., Chagas Júnior, A.F., Nascimento, I.R., Barbosa, L.C.A. Efeito da adubação mineral na produção de biomassa e no teor e composição do óleo essencial do capim-citronela. Bioscience Journal. **2013**, v.29, p.852–858.
- Seixas, P.T.L., Castro, H.G., Cardoso, D.P., Chagas Júnior, A.F., Nascimento, I.R., Barbosa, L.C.A. Efeito da adubação mineral na produção de

biomassa e no teor e composição do óleo essencial do capim-citronela. Bioscience Journal. **2013**, v.29, p.852–858.

Todorova, M., Trendafilova, A., Danova, K., Simmons, L., Wolfram, E., Meier, B., Riedl, R., Evstatieva, L. Highly oxygenated sesquiterpenes in *Artemisia alba* Turra. Phytochemistry. **2015**, v.110, p.140–149.

Veloso, R.A., Castro, H.G., Cardoso, D.P., Santos, G.R., Barbosa, L.C.A., Silva, K.P. Composição e fungitoxicidade do óleo essencial de capim citronela em função da adubação orgânica. Pesquisa Agropecuária Brasileira. **2012**, v.47, p.1707-1713.

3. CAPÍTULO 2

*TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CINCO ESPÉCIES DE Artemisia
CONTRA Diaphania hyalinata E SUA SELETIVIDADE A INSETOS
BENÉFICOS*

RESUMO

A demanda de novos inseticidas eficazes no controle de pragas com baixa toxicidade para os organismos não alvos, como os inimigos naturais e os polinizadores, está aumentando constantemente. Uma boa alternativa para inseticidas sintéticos é a utilização de compostos naturais, incluindo óleos essenciais (OE). O objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade dos óleos essenciais extraídos de *Artemisia annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculus* e *A. vulgaris* contra larvas de *Diaphania hyalinata*, uma praga significativa em Cucurbitáceas e sua seletividade em testes com as espécies

benéficas *Solenopsis saevissima* e *Tetragonisca angustula*. As cinco espécies de *Artemisia* apresentaram constituintes químicos diferentes, destacando os majoritários: cânfora, germacreno D e 1,8-cineol (*A. annua*); Z-isocitral, β -pineno e mirceno (*A. absinthium*); metileugenol e β -pineno (*A. dracunculus*); germacreno D-4-ol, borneol e ascaridol (*A. camphorata*) e *trans*-tujona e 1,8-cineol (*A. vulgaris*). Entre as cinco espécies de *Artemisia*, merece destaque o óleo essencial de *A. annua* com uma concentração de 20 $\mu\text{l mL}^{-1}$ induziu uma alta taxa de mortalidade em *D. hyalinata* (>80%) em um período de teste de 48 horas. Este mesmo óleo essencial com DL_{95} (51,54 $\mu\text{g mg}^{-1}$) foi seletivo para o predador *S. saevissima* (<38% de mortalidade) e do polinizador *T. angustula* (<44% de mortalidade), causando a alta mortalidade em *D. hyalinata* (>96%). O bioensaio com os compostos puros (cânfora e 1,8-cineol) isolados não apresentou atividade inseticida, mas na mistura binária (1:1) houve ação inseticida sobre as larvas de *D. hyalinata* na DL_{95} . Portanto, este óleo essencial contém constituintes promissores para uso eficaz como um inseticida devido à sua alta toxicidade e ação rápida contra a praga e baixa toxicidade para o predador e polinizador.

Palavras-chaves: *Diaphania hyalinata*, *Artemisia*, óleo essencial, inseticida.

3.1. INTRODUÇÃO

Espécies do gênero *Artemisia* (*Artemisia annua*), estragão (*A. dracunculus*), absinto (*A. absinthium*), a cânfora (*A. camphorata*) e a losna (*A. vulgaris*) são altamente aromáticas com diversos usos medicinais (Belhattab *et al.*, 2014; Bessada *et al.*, 2015).

Diversos extratos e substâncias químicas são utilizados no controle de pragas num sistema agroecológico ou mesmo utilizadas como modelo para síntese de novos inseticidas necessários para uma produção orgânica (Tavares *et al.*, 2009).

Diaphania hyalinata (L.) (Lepidoptera: Crambidaea) que é uma

importante praga de Cucurbitáceas, de ocorrência na América do Sul e Central. Ela ataca as folhas, frutos e hastes das plantas, reduzindo a área fotossintética e causando apodrecimento de frutos, tornando-os inutilizáveis para o consumo (Resende *et al.*, 2015).

Entre os inimigos naturais de *D. hyalinata*, destaca-se a formiga *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) que preda larvas e pupas desempenhando um papel importante no controle biológico (Pitts *et al.*, 2005; Resende *et al.*, 2015; Aguiar *et al.*, 2016). Outro importante grupo de insetos benéficos associados aos ecossistemas são as abelhas (Hymenoptera: Apidae) contribuindo de forma positiva através da polinização das flores nas culturas (Brittain *et al.*, 2010),

Entre as espécies de abelhas está *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae) que é conhecida popularmente como abelha jataí. Nas florestas brasileiras, a polinização é favorecida pelas abelhas enquanto outros animais como aves, borboletas e mamíferos desempenham também reconhecido papel de polinizador (Hladi *et al.*, 2016; Resende *et al.*, 2015).

Apesar da importância de *D. hyalinata* como praga e do potencial do uso de óleos essenciais no controle de pragas não se conhece ação dos óleos de *Artemisia* sobre esta praga. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar a atividade inseticida do óleo essencial extraído de cinco espécies de *Artemisia* sobre larvas de *D. hyalinata* e sua seletividade ao predador *S. saevissima* (formiga) e abelha *T. angustula*.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Teor e composição do óleo essencial

Para obtenção do óleo essencial utilizou-se 100 g da parte aérea fresca de cada espécie de *Artemisia* cultivada em casa de vegetação com a dose D2 recomendada pela análise do solo aos 125 dias após transplante. Cada amostra foi submetida a hidrodestilação utilizando um aparelho do tipo de Clevenger modificado durante 1h30min e, em seguida, extraiu com pentano (3 x 40 mL). Adicionou-se sulfato de sódio anidro para remover a água após a

extração. O óleo essencial foi armazenado em recipientes herméticos em um refrigerador a 4 °C.

A análise qualitativa dos constituintes do óleo das espécies de *Artemisia* foi realizada em aparelho Shimadzu GCMS-QP5050A, equipado com coluna de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 µm) e acoplado ao espectrômetro de massas. O gás Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,8 mL min⁻¹; temperatura do injetor 220 °C, temperatura inicial da coluna 40 °C, isoterma por 2 min., seguido de aquecimento de 3 °C min⁻¹ até 240 °C, mais isoterma por 15 min.; volume de injeção 1,0 µL (1% p/v em CH₂Cl₂); razão de Split 1:10; pressão da coluna 100 kPa; temperatura da interface 240 °C; ionização por impacto de elétrons (70 eV); amplitude de varredura de 30 a 600 daltons.

Após a identificação dos constituintes dos óleos essenciais, a determinação do teor de cada composto foi realizada por cromatografia gasosa utilizando o cromatógrafo Shimadzu, modelo 17A, conectado ao detector de ionização de chamas (CG-DIC) equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (SBP5-Supelco, 30 m x 0,25 mm d.i, espessura do filme de 0,25 µm). A temperatura da coluna foi programada para variar de 40 °C (4 min.) a 200 °C a uma taxa de 3 °C min⁻¹. O injetor e o detector foram mantidos a 200 °C e 240 °C, respectivamente. O gás de arraste foi o nitrogênio a uma taxa de fluxo de 1,8 mL mL⁻¹. A quantidade de 1,0 µL (solução do óleo essencial 1% m/v em diclorometano) foi injetada e a razão de split foi de 1:10.

As análises foram realizadas em triplicata e a concentração de cada constituinte foi calculada pela porcentagem da área do pico correspondente em relação à área total dos picos. A identificação dos constituintes de cada mistura de óleo foi realizada pela comparação de seus tempos de retenção, relativos à série de alcanos (C₉ – C₂₇), e pela comparação dos espectros de massa com o banco de dados da biblioteca Wiley e Nist 05, 08 e 11 e com a literatura (Adams, 2007).

3.2.2. Compostos puros

Os produtos puros foram adquiridos do Sigma Chemical Co., St. Louis, MO (1,8-cineol e cânfora). Foram dissolvidos em acetona (para administração tópica).

3.2.3. Bioensaios

Neste trabalho foram realizados cinco bioensaios. No primeiro bioensaio foi selecionado o óleo essencial mais eficiente no controle da praga. No segundo bioensaio foi estudada a potência de controle da praga pelo óleo essencial selecionado no primeiro bioensaio. No terceiro bioensaio foi estudada a velocidade de controle da praga pelo óleo selecionado. No quarto bioensaio foram estudados os compostos majoritários do óleo essencial responsável pelo seu efeito inseticida. E por fim, o quinto bioensaio foi estudado a seletividade do óleo selecionado aos organismos benéficos.

Os óleos essenciais e os demais tratamentos foram aplicados topicamente. Nestas aplicações foi usada acetona como solvente. Estas aplicações possibilitam que todas as quantidades dos compostos aplicados penetrem através do exoesqueleto dos insetos e exerçam uma ação tóxica no interior do corpo destes organismos (*D. hyalinata*, *S. saevissima* e *T. angustula*). A aplicação tópica simula a aplicação em campo por pulverização com grande economia da quantidade de compostos usados.

Assim, devido às pequenas quantidades de óleos essenciais disponíveis para realização dos vários bioensaios, optou-se pela aplicação tópica dos tratamentos. Os óleos essenciais e os compostos foram dissolvidos em acetona. Foi aplicado 0,5 µL da solução na região abdominal de cada inseto utilizando uma microsseringa Hamilton de 10 µL de capacidade.

3.2.3.1. Bioensaio de seleção do óleo essencial mais tóxico a praga

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições. Cada repetição foi constituída por pote de plásticos contendo 10 larvas de segundo ínstar de *D. hyalinata* e folhas de chuchu para alimentação dos insetos.

Os tratamentos foram os óleos essenciais das cinco espécies de *Artemisia*, o padrão de eficiência e o controle. As espécies de *Artemisia* estudadas foram *A. annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculus* e *A. vulgaris*.

O padrão de eficiência foi o óleo de nim (Azamax®) tendo o seu uso comercial no controle de *D. hyalinata* e por ele ser do mesmo grupo dos tratamentos estudados (produto natural). No controle negativo dos insetos foram tratados com solvente (acetona) usado na aplicação dos tratamentos.

A dose usada neste bioensaio foi de 20 µg mg⁻¹ de inseto. Esta dose foi utilizada devido a estes testes se usar doses de 10 a 50 µg mg⁻¹ de insetos (Paula *et al.*, 2000).

A mortalidade dos insetos foi avaliada 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Este tempo de avaliação foi empregado devido a observações em bioensaios preliminares. Os insetos foram considerados mortos quando depois de tocados estes não apresentaram qualquer movimentação.

Os dados de mortalidade dos insetos foram submetidos a análise de variância < 0,05. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a P <0,05 (Scott & Knott, 1974).

3.2.3.2. Bioensaio de estudo da potência de controle do óleo essencial selecionado

Neste bioensaio foi usado o óleo selecionado no bioensaio anterior (*A. annua*), o padrão de eficiência (Azamax®) e o controle negativo (acetona). O delineamento experimental, repetição e metodologia de avaliação foram às mesmas do primeiro bioensaio.

Os tratamentos foram às doses 2,5; 5,0; 12,5; 15,0; 17,5 e 20,0 dos óleos (*A. annua* e *nim*) e o controle. As mortalidades dos insetos pelas doses dos óleos foram corrigidas pela mortalidade ocorrida no controle usando a fórmula de Abbot (1995). Os dados das mortalidades corrigidas em função das doses foram submetidas a análise de Probit (Finney, 1971) usando o procedimento PROBIT do SAS (SAS, 2008). As curvas foram aceitas quando apresentaram probabilidade superior a 0,05 usando estas curvas foram

estimadas as doses letais para 50% (DL₅₀) e 95% (DL₉₅) das populações da praga. Estas doses letais foram comparadas usando os intervalos fiduciais estimados a 95% de probabilidades.

3.2.3.3. Bioensaio de determinação de velocidade de controle da praga pelo óleo essencial selecionado

Os tratamentos deste bioensaio foram a DL₉₅ do óleo selecionado (*A. annua*) e o controle (acetona). Esta DL₉₅ foi determinada no segundo bioensaio. Foram usados 120 insetos em cada tratamento. A metodologia de avaliação e condução do bioensaio foi a mesma empregada no primeiro bioensaio. Foi avaliada até 36 horas de cada tratamento a mortalidade dos insetos. Até seis horas após o início do bioensaio a mortalidade foi avaliada a cada 3 horas. Este tempo foi estabelecido em bioensaios prévios na qual se determinou que esta metodologia fosse adequada a se estimar curva tempo-mortalidade para a praga quando ela fosse submetida a estes tratamentos.

Os dados de sobrevivência do inseto foram submetidos à análise de sobrevivência utilizando o método não paramétrico procedimento LIFETEST do SAS (SAS, 2008). Usando está curva estimou o tempo letal para metade da população de pragas (TL₅₀) e seu intervalo de confiança a 95% de probabilidade (SAS, 2008).

3.2.3.4. Bioensaio de determinação dos compostos que são responsáveis pela ação tóxica do óleo sobre a praga

Os tratamentos deste bioensaio foram a DL₉₅ (51,54 µg mg de insetos) do óleo selecionado (*A. annua*) e seus componentes majoritários cânfora e 1,8-cineol, a mistura destes dois compostos e o controle (acetona). As doses de cânfora (16,39 µg mg de inseto) e 1,8-cineol (1,48 µg mg de insetos) foram aquelas presentes destes compostos na DL₉₅ do óleo essencial e relatando que no óleo de *A. annua* possui 31,80% de cânfora e 2,87% de 1,8-cineol. A metodologia de avaliação e condução foi à mesma usada no primeiro bioensaio. A mortalidade foi avaliada em 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Os dados de mortalidade dos insetos pelo óleo e compostos

foram corrigidos pela mortalidade e controle usando a fórmula de Abbott (1995). A análise dos dados foi semelhante à realizada no primeiro bioensaio.

3.2.3.5. Seletividade do óleo selecionado a insetos benéficos

Os insetos estudados foram larvas de segundo instar de *D. hyalinata* e adultos da formiga predadora *S. saevissima* e da abelha *T. angustula*. Foi usado a DL₉₅ (51,54 µg mg⁻¹ de insetos) do óleo mais tóxico (*A. annua*) e o controle (acetona). As mortalidades dos insetos pelo óleo foram corrigidas pela mortalidade e controle usando a fórmula de Abbott (1995). Os dados de mortalidade corrigidos da praga foram comparados com as mortalidade dos insetos não-alvo pelo teste T (P<0,05).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Óleo essencial

A constituição química dos óleos essenciais avaliados está representada na **Tabela 3.2**, na qual são reportados os majoritários de cada espécie de *Artemisia* avaliada.

Tabela 3.2. Constituintes químicos majoritários presentes no óleo essencial de cinco espécies de *Artemisia* na dose D2 aos 125 DAT (dias após o transplante).

Compostos	IA _c	Espécies de <i>Artemisia</i>				
		A. a	A. b	A. c	A. d	A. v
α-pineno	929	--	4,16	--	--	--
β-pineno	970	--	15,21	--	25,27	--
mirceno	991	--	17,56	--	0,88	--
σ-cimeno	1022	--	1,66	3,93	--	--
1,8-cineol	1027	2,87	0,65	12,26	--	19,06
trans-tujona	1116	--	--	--	--	31,05
cânfora	1144	31,80	--	4,35	--	1,59
Z-isocitral	1160	--	21,56	--	--	--
borneol	1165	--	--	10,23	--	1,15
ascaridol	1239	--	--	10,37	--	--
(E)-cariofileno	1417	7,79	4,55	0,99	--	6,30
metileugenol	1414	--	--	--	57,05	--

germacreno D	1482	20,99	--	3,74	--	6,04
α -chamigreno	1522	--	--	5,57	--	--
germacreno D-4-	1577	--	--	21,35	--	--
ol						

IA_C: índice aritmético calculado; A.a (*Artemisia annua*); A.b (*A. absinthium*); A.c (*A. camphorata*); A.d (*A. dracunculus*) e A.v (*A. vulgaris*)

3.3.2. Bioensaio de seleção dos óleos essenciais com efeito inseticida sobre *D. hyalinata*

No bioensaio de seleção dos óleos com efeito inseticida (dose de 20 μ g mg de inseto) foi verificado efeito nos tratamentos na mortalidade do inseto praga *D. hyalinata*. De acordo com a mortalidade causada a praga e os tratamentos divididos em três grupos, temos no primeiro grupo o óleo de nim (padrão de eficiência) e o óleo de *A. annua* que foram os tratamentos mais eficientes matando de 70 a 84% dos insetos. No segundo grupo estão os óleos essenciais de *A. camphorata* e de *A. dracunculus* que causaram mortalidade de 38 e 27%, respectivamente. E no terceiro grupo estiveram os óleos de *A. vulgaris* e *A. absinthium* que não causaram mortalidade à praga semelhante ao controle (acetona) (**Figura 3.1**).

Portanto, o óleo essencial de *A. annua* foi o mais promissor para ser usado no controle do inseto-praga *D. hyalinata*.

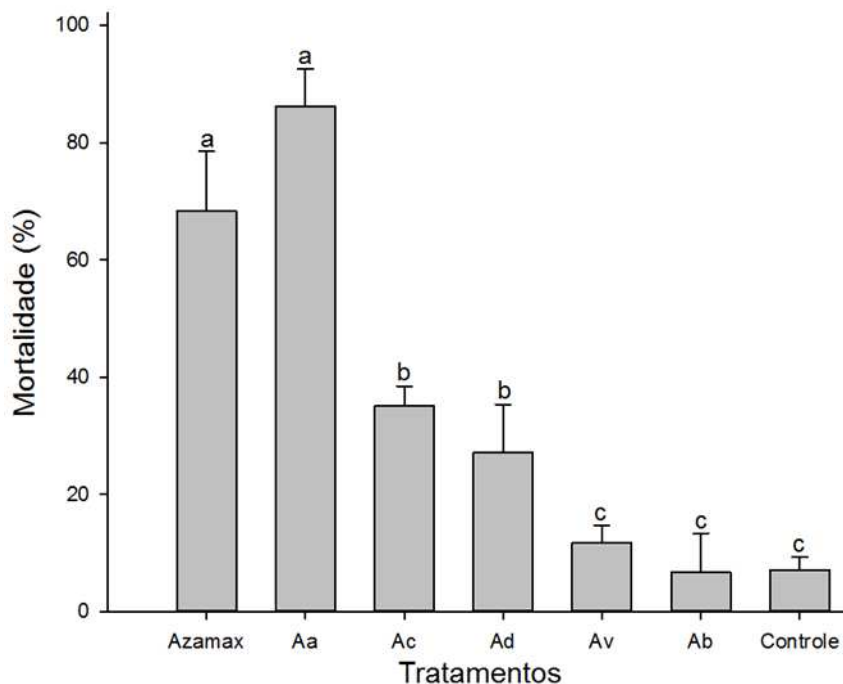


Figura 3.1. Mortalidade (média \pm erro padrão) de larvas de *Diaphania hyalinata* em 48 horas após a aplicação do controle (acetona), de cinco óleos essenciais (*Artemisia annua* (Aa), *A. absinthium* (Ab), *A. camphorata* (A.c), *A. dracunculus* (Ad) e *A. vulgaris* (Av)) e de Azamax® (padrão de eficiência) na dose de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os histogramas seguidos pela mesma letra possuem médias que não diferem entre si pelo teste de agrupamento *Scott-Knott* a $P < 0,05$.

Em outro trabalho foi verificada ação dos óleos essenciais de citronela e eucalipto (concentração de 10 mL L^{-1}), mataram respectivamente 80 e 100% das larvas de *D. hyalinata* enquanto o óleo de nim causou mortalidade menor que 20% na praga (Silva *et al.*, 2015).

3.3.3. Potência de controle de *D. hyalinata*

As DL_{50} e DL_{95} do óleo essencial de *A. annua* foram 2,27 e 51,54 $\mu\text{g mg}$ de insetos. Estas doses letais foram significativamente menores que a DL_{50} e DL_{95} do óleo de nim (**Tabela 3.3**). A potência de um inseticida é inversamente proporcional as suas doses (DL_{50} e DL_{95}).

O uso de um composto como inseticida depende de fatores como sua potência, custo de produção, persistência no ambiente e toxicidade aos organismos não-alvo (*S. saevissima* e *T. angustula*). Assim, o fato de um composto ser mais potente do que outro não inviabiliza seu uso comercial

como inseticida. Neste contexto, existem inseticidas às vezes menos potentes do que outros e são usados comercialmente com controle de pragas (*D. hyalinata*).

Tabela 3.3. Curvas dose-mortalidade dos óleos de *Artemisia annua* (Aa) e de nim (padrão de eficiência) a larvas de *Diaphania hyalinata* em 48 horas após a aplicação dos tratamentos.

Óleo	Y	χ^2	GL	P	DL ₅₀ (µg de óleo mg ⁻¹)	DL ₉₅ (µg de óleo mg ⁻¹)
A. a	-0,43 + 1,21x	1,46	2	0,48	2,27 (1,26-3,47)	51,54 (30,09-118,49)
Óleo nim	-1,40 + 1,52x	3,86	4	0,43	8,35 (6,46-10,54)	101,35 (64,93-195,09)

y = equação da curva; χ^2 = teste qui-quadrado; GL = graus de liberdade; P=probabilidade;

3.3.4. Velocidade de ação do óleo essencial de *A. annua*

Foi observado que o óleo essencial de *A. annua* tem rápida ação de controle sobre *D. hyalinata* controlando 100% da praga em 36 minutos (**Figura 3.2**). Esta rapidez de ação é importante no controle de pragas que tem alta capacidade de causarem danos aos cultivos (Tian *et al.*, 2015). No caso específico de *D. hyalinata* suas larvas inicialmente atacam as folhas e posteriormente migram para os frutos onde causam grandes prejuízos (Silva *et al.*, 2015).

Portanto, é importante o controle rápido desta praga antes que ela cause danos econômicos. Assim, o uso do óleo de *A. annua* desempenha uma ação eficaz no controle rápido de *D. hyalinata* pela característica de rápida ação contra a praga.

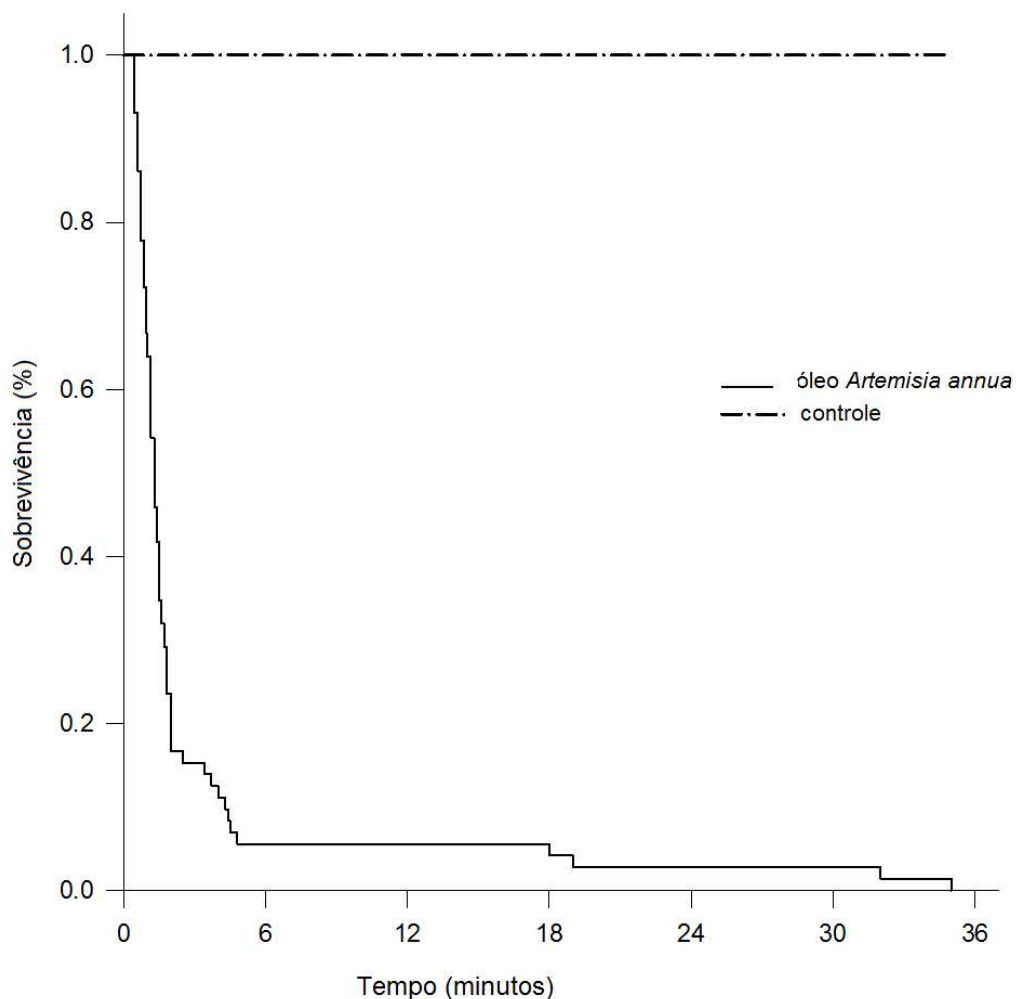


Figura 3.2. Velocidade de ação do óleo essencial de *A. annua* usando a curva de sobrevivência de larvas de segundo instar de *Diaphania hyalinata* submetida à DL₉₅ deste óleo e o controle (acetona).

3.3.5. Efeito sinérgico dos compostos do óleo essencial de *A. annua*

No bioensaio de estudo do efeito sinérgico dos componentes majoritários do óleo essencial de *A. annua* verificou-se efeito dos tratamentos na mortalidade de *D. hyalinata*. Os tratamentos se dividiram em dois grupos. No primeiro grupo esteve o óleo essencial de *A. annua* e a mistura cânfora + 1,8-cineol que causaram alta mortalidade (>80%) a praga. E o segundo grupo foram os compostos cânfora e 1,8-cineol que causaram menos de 35% de mortalidade a praga (**Figura 3.3**). Somando-se as mortalidades causadas pela aplicação isolada da cânfora e 1,8-cineol esta soma foi menor do que as mortalidades causadas pelo óleo essencial de *A. annua* e da mistura destes dois compostos. Portanto, a toxicidade do óleo essencial de *A. annua* foi

causada pelos compostos majoritários cânfora e o 1,8-cineol e pelo efeito sinérgico destes compostos.

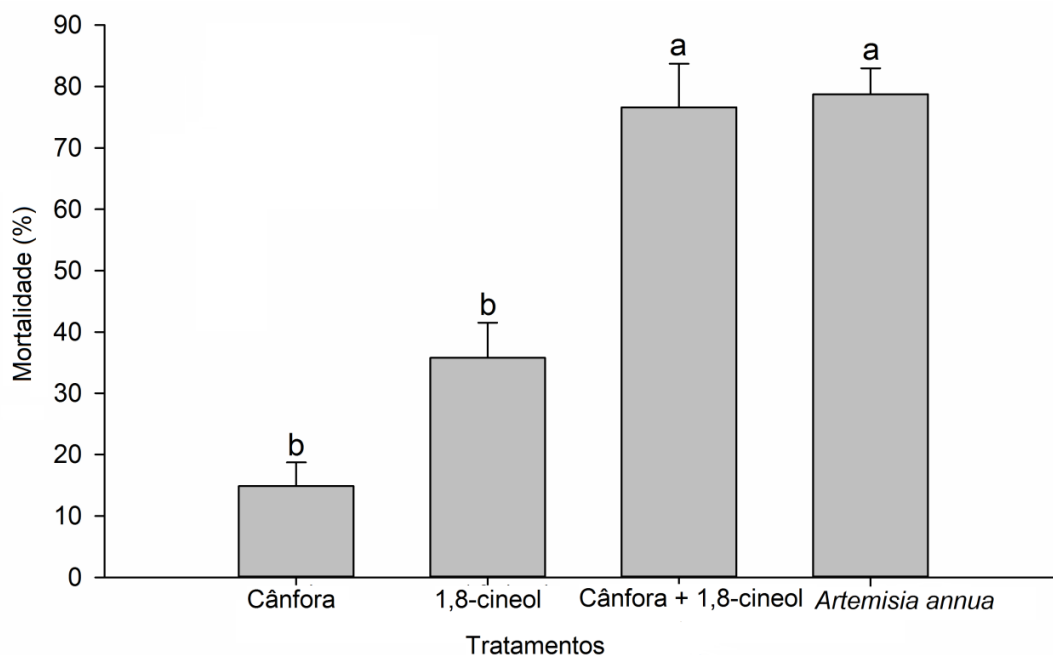


Figura 3.3. Mortalidades (média + erro padrão) de larvas de *Diaphania hyalinata* em 48 horas após a aplicação tópica dos compostos majoritários cânfora, 1,8-cineol, mistura binária proporção 1:1 dos constituintes relacionados e óleo de *A. annua*. A dose usada do óleo foi a DL₉₅ para as larvas de *D. hyalinata*. Histograma pelo teste t a $P < 0.05$

3.3.6. Seletividade para os organismos benéficos

O teste de seletividade do efeito dos óleos de *Artemisia* foi realizado com *D. hyalinata*, *T. angustula* e *S. saevissima* com a finalidade de verificar se o efeito do óleo se mostrava como tóxico para inseto-praga (*D. hyalinata*) e não tóxico para o inseto predador (*S. saevissima*) e para o polinizador (*T. angustula*).

O resultado deste teste está mostrado na **Figura 3.4**. Por este resultado pode-se observar que a mortalidade de *D. hyalinata* induzida pelo óleo essencial de *A. annua* foi superior à de seu predador *S. saevissima* e do polinizador *T. angustula*. O óleo essencial causou 96,67% de mortalidade nas larvas de *D. hyalinata*. A taxa de mortalidade de *S. saevissima* exposta ao óleo essencial foi de 38,46%. Estes valores são inferiores aos observados para o *D.*

hyalinata e são significativamente diferentes, indicando que o óleo essencial foi seletivo em favor do predador. Além disso, o óleo de *A. annua* também foi seletivo em favor do polinizador *T. angustula*, mesmo com 44% de mortalidade (Figura 3.4).

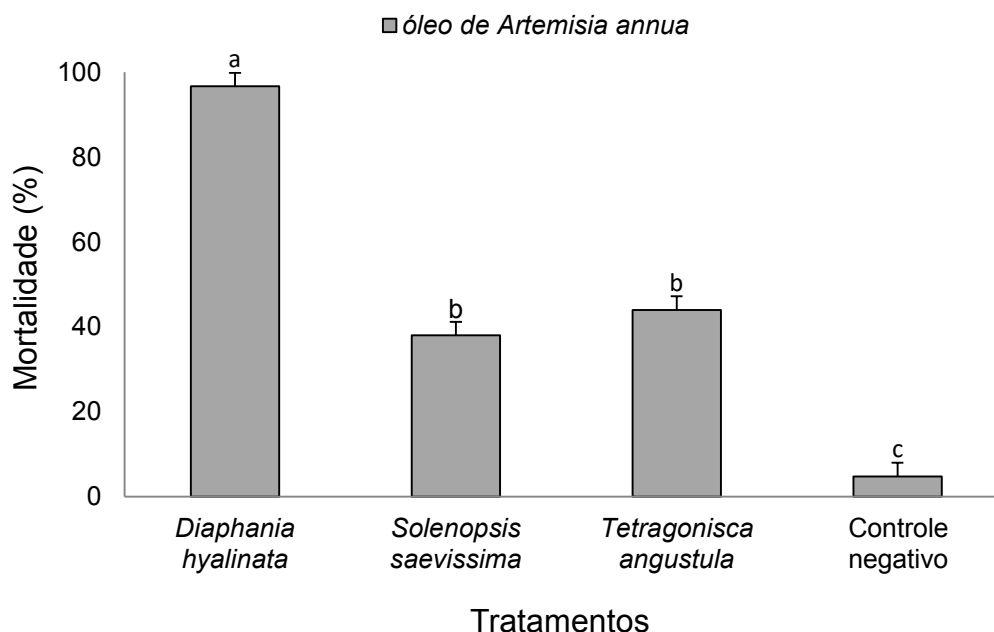


Figura 3.3. Mortalidades (média + erro padrão) a larvas de *Diaphania hyalinata*, ao predador *Solenopsis saevissima* e ao polinizador *Tetragonisca angustula* em 48 horas após a aplicação tópica do óleo *A. annua* e do controle. Histograma pelo teste t a $P < 0.05$. A dose usada do óleo foi a DL_{95} para as larvas de *D. hyalinata*. Apenas acetona foi utilizada no controle.

No ensaio de atividade inseticida verificou-se que o óleo de *A. annua* causou mortalidade de 96% às larvas de *D. hyalinata* (DL_{95} 51,54 $\mu\text{g mg}^{-1}$) em relação ao controle, conforme observado na figura 3.4. Os óleos causaram mortalidade menor que 50% ao serem aplicados nos insetos benéficos.

A atividade inseticida está relacionada com a penetração do inseticida através da cutícula do inseto (Silva *et al.*, 2015). Considerando que a lipofilicidade é inversamente proporcional à solubilidade do óleo essencial em água, os compostos lipofílicos geralmente penetram a taxa mais alta no corpo do inseto, dada à similaridade em suas cutículas (López & Pascual-Villalobos, 2010; Kumar *et al.*, 2011).

A mesma relação com a lipofilicidade dos óleos essenciais inalados ou topicamente aplicados tem sido sugerida também para inibir com sucesso o

crescimento microbiano, interagindo com as membranas celulares, tornando-as mais permeáveis, resultando na morte das células e interrupção de vias metabólicas específicas da enzima (Kumar *et al.*, 2011). Os óleos essenciais também podem inibir a síntese de DNA, RNA, proteínas e polissacarídeos nas células bacterianas (Demuner *et al.*, 2011; Abad *et al.*, 2012).

Diante de relatos na literatura do efeito tóxico dos constituintes presentes no óleo essencial de *A. annua* (cânfora e 1,8-cineol) (Ahmad *et al.*, 2009; Brown, 2010; Tian *et al.*, 2015), foi realizado um ensaio para verificação de um efeito sinérgico entre estes dois produtos (**Figura 3.4**).

Como as plantas costumam apresentar defesas como um conjunto de compostos, e não como indivíduos, pensa-se que os constituintes menores encontrados em baixas percentagens podem atuar como sinergistas, aumentando a eficácia dos principais constituintes através de uma variedade de mecanismos (Hummerbrunner & Isman, 2001).

No entanto, os óleos essenciais podem ser mais tóxicos do que os seus componentes isolados devido ao efeito sinérgico entre os seus constituintes, incluindo mesmo os compostos com menor concentração (Nerio *et al.*, 2010; Seixas *et al.*, 2011). Este tipo de sinergia aumenta o efeito do óleo e permite o uso de menores quantidades da mistura para obter resultados satisfatórios (Bacci *et al.*, 2015).

Os inseticidas seletivos que favorecem os inimigos naturais são produtos eficientes em programas de manejo integrado de pragas, pois são eficazes no controle de pragas e na preservação das populações inimigas naturais (Bacci *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2015).

3.4. CONCLUSÃO

Estudos sobre as espécies de *Artemisia* revelaram o seu potencial para a atividade inseticida dos vários constituintes presentes nos seus óleos essenciais, em destaque para óleo essencial de *A. annua* com os compostos majoritários cânfora, germacreno D e 1,8-cineol ambos com ação inseticida investigada. Este óleo revelou alta mortalidade (96%) para a praga inseto *D. hyalinata* e baixas taxas de mortalidade para os insetos benéficos. O óleo essencial de *A. annua* ($DL_{50} = 2,27 \mu\text{g mg}^{-1}$) é quase quatro vezes mais tóxico

do que o produto comercial (Azamax®) ($DL_{50} = 8,35 \mu\text{g mg}^{-1}$). Portanto, o óleo essencial de *A. annua* revelou claramente o potencial como um inseticida eficaz no controle da praga testada. A identificação de tais compostos (cânfora e 1,8-cineol) sinérgicos dentro de misturas complexas pode permitir o desenvolvimento de agentes de controle mais eficazes, bem como a utilização de quantidades menores na mistura para atingir níveis satisfatórios de controle da praga. O óleo de *A. annua* mostrou ter potencial para controlar as infestações de *D. hyalinata*, com ação rápida, eficiência e seletividade aos insetos benéficos, especialmente ao agente de polinização (abelha) e predador como a formiga da espécie *Solenopsis*.

3.5. REFERÊNCIAS

- Abad, M.J., Bedoya, L.M., Apaza, L., Bermejo, P. The *Artemisia* L. Genus: A Review of Bioactive Essential Oils. *Molecules*. **2012**, v.17, p.2542–2566.
- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265–266.
- Adams, R.P. (2007) Identification of essential oil components by gas chromatography /mass spectrometry. 4^a. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, USA.
- Aguiar, A.R., Alvarenga, E.S., Lopes, M.C., Santos, I.B. Dos, Galdino, T. V., Picanço, M.C. Active insecticides for *Diaphania hyalinata* selective for the natural enemy *Solenopsis saevissima*. *Journal of Environmental Science and Health*. **2016**, v.51, p.579–588.
- Ahmad, A.A., Malik, J., Mir, S.R., Ali, M., Abdin, M.Z. Influence of chemical and biological treatments on volatile oil composition of *Artemisia annua* Linn. *Industrial Crops and Products*. **2009**, v.30, p.380–383.
- Antônio, A.C., Picanço, M.C., Gonring, A.H.R., Semeão, A.A., Gontijo, L.M., Sobrinho, T.G. Oviposição de *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Pyralidae) afetada pela face foliar e tricomas. *Acta Scientiarum*. **2002**, v. 24, n.2, p.359-362.
- Bacci, L., Crespo, A.L., Galvan, T.L., Pereira, E.J.G., Picanço, M.C., Silva, G.A., Chediak, M. Toxicity of insecticides to the sweetpotato whitefly

- (Hemiptera: Aleyrodidae) and its natural enemies. **2007**, v.706, p.699–706.
- Belhattab, R., Amor, L., Barroso, G., Pedro, L.G., Figueiredo, A.C. Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*. **2014**, p. 243–251.
- Bessada, S.M.F., Barreira, J.C.M., Oliveira, M., Beatriz, P.P. Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. *Industrial Crops and Products*. **2015**, v.76, p.604–615.
- Briside, E.A., Udensi, O., Chukwurah, P.N., Magalhães, P.M., Mara, G., Ferreira, J.F.S., Adaptation and agronomic performance of *Artemisia annua* L. under lowland humid tropical conditions. *Industrial Crops and Products*. **2012**, v. 39, p.190–197.
- Brittain, C.A., Vighi, M., Bommarco, R., Settele, J., Potts, S.G. Impacts of a pesticide on pollinator species richness at different spatial scales. *Basic and Applied Ecology*. **2010**, v.11, n.2, p.106–115.
- Brown, G.D. The Biosynthesis of Artemisinin (Qinghaosu) and the phytochemistry of *Artemisia annua* L. (Qinghao). *Molecules*. **2010**, v.15, p.7603–7698.
- Demuner, A.J., Barbosa, L.C.A., Magalhaes, C.G., Silva, C.J., Maltha, C.R.A., Pinheiro, A.L. Seasonal variation in the chemical composition and antimicrobial activity of volatile oils of three species of *Leptospermum* (Myrtaceae) grown in Brazil. *Molecules*. **2011**, v.16, p.1181–1191.
- Finney, D. J. *Probit Analysis*, 3rd ed.; Cambridge University Press: London, U.K., 1971; 333 pp.
- Hladik, M.L., Vandever, M., Smalling, K.L. Exposure of native bees foraging in an agricultural landscape to current-use pesticides. *Science of the Total Environment*. **2016**, v.542, p.469–477.
- Hummelbrunner, L.H., & Isman, M.B. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *Journal Agricultural Food Chemistry*. **2001**, v.49, p.715-720.

- Isman, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. 2001.v.19, p.603–608.
- Kumar, S., Wahab, N., Warikoo, R. Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **2011**, v.1, p. 85-88.
- López, M.D., Pascual-Villalobos, M.J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products*. **2010**, v.31, p.284–288.
- Nerio, S.L., Olivero-verbel, J., Stashenko, E. Repellent activity of essential oils : A review. *Bioresource Technology*. **2010**, v.101, p.372–378.
- Paula, V.F., Barbosa, L.C.A., Picanço, M.C., Veloso, D.P. Toxicidade de amidas derivadas da piperina para larvas de *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera, Pieridae). *Revista Brasileira de Entomologia*. **2001**, v.45, p.7-10.
- Pitts, J.P., Mchugh, J.V., Ross, K.G. Cladistic analysis of the fire ants of the *Solenopsis saevissima* species-group (Hymenoptera: Formicidae). **2005**, p.493–505.
- Resende, G.C., Alvarenga, E.S., Araújo, T.A. de, Campos, J.N., Picanço, M.C. Toxicity to *Diaphania hyalinata*, selectivity to non-target species and phytotoxicity of furanones and phthalide analogues. *Pest Management Science*. **2015**, v.72, p. 1772-1777.
- SAS, Institute (**2008**) SAS User's Guide: Statistics. SAS Institute, Cary,NC, USA.
- Scott, A.J., Knott, M.A. (**1974**). A cluster analyses method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*. v.30,p.507-512.
- Seixas, P.T.L., Castro, H.C., Santos, G.R., Cardoso, D.P. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. **2011**, v.13, p. 523-526.
- Silva, R. S., R.S., Tomaz, A.C., Lopes, M.C., Martins, J.C., Xavier, V.M., Picanço, M.C. Toxicity of botanical insecticides on *Diaphania hyalinata*, their selectivity for the predatory ant *Paratrechina* sp., and their potential

phytotoxicity on pumpkin. International Journal of Pest Management. **2015**, v.61, p.1-10.

Tavares, W.S., Cruz, I., Petacci, F., Assis, J.S.L., Freitas, S.S., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E. Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera:Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). Industrial Crops and Products. **2009**, v.30, n.3, p.384–388.

Tian, N., Tang, Y., Xiong, S., Tian, D., Chen, Y., Wu, D., Liu, Z., Liu, S. Molecular cloning and functional identification of a novel borneol dehydrogenase from *Artemisia annua* L . Industrial crops and products. **2015**, v.77, p.190–19

4. CAPÍTULO 3

TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CINCO ESPÉCIES DE *Artemisia* A LARVAS DE *Aedes aegypti* L.

RESUMO

Na busca por controle químico alternativo contra *Aedes aegypti* L., muitas pesquisas são desenvolvidas e estimuladas no intuito de se descobrirem novas substâncias inseticidas de origem vegetal. Neste trabalho, o efeito larvicida de óleos essenciais de cinco espécies de *Artemisia* foi avaliado contra *A. aegypti*. O objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade dos óleos essenciais extraídos de *Artemisia annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracuncululus* e *A. vulgaris* a larvas de *A. aegypti*. As cinco espécies de *Artemisia* apresentaram constituintes químicos diferentes, destacando os majoritários: cânfora,

germacreno D e 1,8-cineol (*A. annua*); Z-isocitral, β -pineno e mirceno (*A. absinthium*); metileugenol e β -pineno (*A. dracunculus*); germacreno D-4-ol, borneol e ascaridol (*A. camphorata*) e *trans*-tujona e 1,8-cineol (*A. vulgaris*). Os óleos essenciais foram diluídos em solução aquosa de dimetilsufóxido na concentração de 100 ppm. A atividade larvicida, baseada na percentagem de larvas mortas, foi avaliada 48h após o tratamento. O óleo essencial de *A. camphorata* teve a maior atividade larvicida, com CL₅₀ de 64,95 ppm e CL₉₅ de 74,18 ppm. Os compostos puros de 1,8-cineol e borneol não apresentaram atividade larvicida sobre *A. aegypti*. Portanto, o óleo essencial de *A. camphorata* apresenta potencial de uso como larvicida contra *A. aegypti*.

Palavras-chaves: vetor da dengue, *Artemisia camphorata*, bioatividade, larvicida

4.1. INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* é o vetor de transmissão da dengue e de outras doenças, tais como a febre amarela, a febre Chikungunya (OMS, 2015), e a febre causada pelo vírus Zika (Rajkumar & Jebanesan, 2010). Nos últimos anos, no Brasil, o número de casos de dengue atingiu números elevados que foi considerado como epidemia em vários estados da Federação. Esse número chegou a 1.485.397 de suspeitos de dengue notificados no país. Desses, 19.380 casos foram confirmados causando 761 mortes (Boletim Epidemiológico, 2015).

Mesmo com tantos casos, nenhum medicamento específico foi ainda desenvolvido para o tratamento destas doenças. O uso mais comum é o

controle do vetor com o uso de inseticidas sintéticos ainda é a melhor estratégia (El-Sheikh *et al.*, 2012; OMS, 2015; Araujo *et al.*, 2016). Porém, o uso constante de inseticidas no controle do vetor apresenta desvantagens como seleção de populações do inseto resistentes a estes produtos, a redução de população de insetos benéficos, contaminação ambiental, alimentar e animal (Maria & Silva, 2005; Prajapati *et al.*, 2005; Omena *et al.*, 2007).

Na busca por métodos alternativos de controle que sejam menos ou não tóxicos para a população e o ambiente, vários estudos têm sido feitos com produtos extraídos de plantas visando o controle alternativo (Silva *et al.*, 2008; Rajkumar & Jebanesan, 2010). As plantas possuem uma ampla variedade de compostos bioativos que são seletivos e biodegradáveis, tornando-os potencialmente apropriados para uso em programas de manejo integrado de pragas (Nerio *et al.*, 2010; Govindarajan *et al.*, 2013; Reegan *et al.*, 2014).

Nas espécies do gênero *Artemisia*, a composição química do óleo essencial pode variar consideravelmente entre as espécies e dentro da mesma variedade quando elas se desenvolvem em diferentes áreas geográficas (Kiran *et al.*, 2006; Bakkali & Idaomar, 2008; Gonzalez-Coloma *et al.*, 2012; Williams *et al.*, 2013; Karimi *et al.*, 2015; Zhigzhitzhapova *et al.*, 2016; Yao & Bo, 2016).

Entre os inseticidas de origem vegetal estão os óleos essenciais. Estes óleos podem ter alta eficiência no controle de insetos devido a sua toxicidade e serem lipofílicos. Esta última característica possibilita que estes óleos penetrem no corpo dos insetos onde exercem sua toxicidade a estes organismos (Bakkali & Idaomar, 2008).

As plantas do gênero *Artemisia* (Asteraceae) possuem mais de 800 espécies distribuídas em todo o planeta. O óleo essencial destas plantas possuem várias atividades biológicas, entre elas, podem ter ação inseticida (Yao & Bo, 2016). Entre as espécies de *Artemisia* mais importantes estão *A. annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracunculus* e *A. vulgaris*.

Neste contexto, os óleos essenciais de plantas possuem potencial de uso no controle de *A. aegypti*. Entretanto, até o momento não se conhece o efeito larvicida dos óleos essenciais das principais espécies de *Artemisia* sobre *A. aegypti*. Assim, este trabalho teve por objetivo determinar o efeito larvicida dos óleos essenciais de cinco espécies de *Artemisia* a *A. aegypti*.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Composição do óleo essencial

Para obtenção do óleo essencial utilizou-se 100 g da parte aérea fresca de cada espécie de *Artemisia* cultivada em casa de vegetação. Cada amostra foi submetida a hidrodestilação utilizando um aparelho do tipo de Clevenger modificado durante 1h30min e, em seguida, extraiu com pentano (3 x 40 mL). Adicionou-se sulfato de sódio anidro para remover a água após a extração. O óleo essencial foi armazenado em recipientes herméticos em um refrigerador a 4 °C.

A análise qualitativa dos constituintes do óleo das espécies de *Artemisia* foi realizada em aparelho Shimadzu GCMS-QP5050A, equipado com coluna de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 µm) e acoplado ao espectrômetro de massas. O gás Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,8 mL min⁻¹; temperatura do injetor 220 °C, temperatura inicial da coluna 40 °C, isoterma por 2 min., seguido de aquecimento de 3 °C min⁻¹ até 240 °C, mais isoterma por 15 min.; volume de injeção 1,0 µL (1% p/v em CH₂Cl₂); razão de Split 1:10; pressão da coluna 100 kPa; temperatura da interface 240 °C; ionização por impacto de elétrons (70 eV); amplitude de varredura de 30 a 600 daltons.

Após a identificação dos constituintes dos óleos essenciais, a determinação do teor de cada composto foi realizada por cromatografia gasosa utilizando o cromatógrafo Shimadzu, modelo 17A, conectado ao detector de ionização de chamas (CG-DIC) equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (SBP5-Supelco, 30 m x 0,25 mm d.i, espessura do filme de 0,25 µm). A temperatura da coluna foi programada para variar de 40 °C (4 min.) a 200 °C a uma taxa de 3 °C min⁻¹. O injetor e o detector foram mantidos a 200 °C e 240 °C, respectivamente. O gás de arraste foi o nitrogênio a uma taxa de fluxo de 1,8 mL mL⁻¹. A quantidade de 1,0 µL (solução do óleo essencial 1% m/v em diclorometano) foi injetada e a razão de split foi de 1:10.

As análises foram realizadas em triplicata e a concentração de cada constituinte foi calculada pela porcentagem da área do pico correspondente em relação à área total dos picos. A identificação dos constituintes de cada mistura

de óleo foi realizada pela comparação de seus tempos de retenção, relativos à série de alcanos ($C_9 - C_{27}$), e pela comparação dos espectros de massa com o banco de dados da biblioteca Wiley e Nist 05, 08 e 11 e com a literatura (Adams, 2007).

4.2.2. *Compostos puros*

Os compostos puros foram adquiridos do Sigma Chemical Co., St. Louis, MO (borneol e cânfora). Foram dissolvidos em acetona (para administração tópica).

4.2.3. *Larvas*

As larvas de *A. aegypti* utilizadas no ensaio foram obtidas do insetário do laboratório de Biologia Molecular da UFV. Larvas de 4º ínstar foram utilizadas, de acordo com o protocolo da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2005). Os tratamentos foram constituídos dos óleos essenciais de cinco espécies de *Artemisia*, um padrão positivo (Azamax®) e o controle (água + dimetilsulfóxido, DMSO 0,2% v/v). As larvas foram criadas a $27,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12:12 h (luz: escuro) e umidade relativa de $78 \pm 2\%$ de umidade relativa. As larvas foram alimentadas com ração de gato.

4.2.4. *Bioensaios*

Foram realizados três bioensaios. No primeiro bioensaio foi selecionado o óleo essencial, com efeito, larvicida sobre *A. aegypti*. No segundo bioensaio foi determinado curva dose-mortalidade do óleo essencial selecionado. E no terceiro bioensaio foi avaliado o efeito sinérgico de dois compostos presentes no óleo essencial selecionado.

4.2.4.1. *Seleção do óleo essencial com maior efeito larvicida*

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Nos tratamentos foram usados os seguintes óleos essenciais de *Artemisia*: *A. annua*, *A. absinthium*, *A. camphorata*, *A. dracuncululus*, *A. vulgaris* e o controle positivo (Azamax®). Cada repetição foi constituída por potes

plásticos de 50 mL contendo 25 mL de solução contendo os tratamentos de 10 larvas de 4^o instar de *A. aegypti*.

As soluções foram preparadas em recipientes de 500 mL. Em cada recipiente foi adicionada uma solução contendo 12,5 µL do tratamento (óleo essencial de *Artemisia* ou padrão positivo) solubilizado em 250 µL de DMSO. Posteriormente eram adicionados em recipiente de 125 mL de água destilada, de forma a se obter uma concentração de 100 ppm de cada tratamento. Essa solução foi dividida em cinco potes plásticos de 50 mL, totalizando 25 mL da solução por pote. Foram adicionadas 10 larvas de quarto instar de *A. aegypti* por pote e essas foram alimentadas com ração de gato (2 mg/pote), constituindo assim uma repetição. Os potes contendo as larvas foram mantidos a $25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12:12 h (luz: escuro) e umidade relativa de $65 \pm 2 \%$. A mortalidade das larvas foi avaliada 48 horas após a instalação do bioensaio. As larvas do mosquito foram consideradas mortas quando não se moviam depois de serem tocadas suavemente com uma haste de vidro ou quando não conseguiam subir para a superfície quando a solução foi agitada, após 48 h da aplicação dos tratamentos (OMS, 2005).

4.2.4.2. Determinação da curva concentração-mortalidade do óleo com maior atividade larvicida

Os óleos aplicados na concentração de 100 ppm que apresentaram mortalidade superior ou igual a 80% foram selecionados para o ensaio de concentração-mortalidade. O delineamento experimental, repetições, condução e avaliações foram semelhantes aos do bioensaio anterior. Foram preparadas soluções do óleo essencial nas concentrações de 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 e 95 ppm e seis concentrações do padrão positivo Azamax® (0,049; 0,138; 0,276; 0,414; 0,552; 0,691 ppm).

4.2.4.3 Sinergismo

O delineamento experimental, repetição, condução e avaliações foram semelhantes aos dos bioensaios anteriores. Os tratamentos foram o controle (água + DMSO 0,2% v/v), a CL₉₅ do óleo de *A. camphorata* (84,22 ppm) e os

seus componentes majoritários 1,8-cineol com $CL_{95}=11,03$ ppm e borneol com $CL_{95} = 9,23$ ppm, aplicados isoladamente e em combinação na proporção 1:1 que esses componentes representam no óleo essencial de *A. camphorata*. A mortalidade das larvas foi avaliada 48 horas após a aplicação dos tratamentos.

4.2.5. Análises estatísticas

Os dados de mortalidade de *A. aegypti* foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey a $P<0,05$.

Os dados foram submetidos à análise de Probit (Finney, 1971) usando o procedimento PROC PROBIT do SAS (SAS, 2013). Foram estimadas as curvas de concentração-mortalidade contendo as doses letais para 50 e 95% das larvas (CL_{50} e CL_{95}) e os intervalos de confiança para estas concentrações a 95% de probabilidade.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Composição do óleo essencial

A constituição química dos óleos essenciais avaliados está representada na **Tabela 4.1**, reportando os majoritários de cada espécie de *Artemisia* avaliada.

Tabela 4.1. Constituintes químicos majoritários presentes no óleo essencial de cinco espécies de *Artemisia* na dose D2 aos 125 DAT.

Compostos	IA _c	Espécies de <i>Artemisia</i>				
		A. a	A. b	A. c	A. d	A. v
α-pineno	929	--	4,16	--	--	--
β-pineno	970	--	15,21	--	25,27	--
mirceno	991	--	17,56	--	0,88	--
σ-cimeno	1022	--	1,66	3,93	--	--
1,8-cineol	1027	2,87	0,65	12,26	--	19,06
trans-tujona	1116	--	--	--	--	31,05
cânfora	1144	31,80	--	4,35	--	1,59
Z-isocitral	1160	--	21,56	--	--	--
borneol	1165	--	--	10,23	--	1,15
ascaridol	1239	--	--	10,37	--	--
(E)-cariofileno	1417	7,79	4,55	0,99	--	6,30

metileugenol	1414	--	--	--	57,05	--
germacreno D	1482	20,99	--	3,74	--	6,04
α -chamigreno	1522	--	--	5,57	--	--
germacreno D-4-ol	1577	--	--	21,35	--	--

IA_C: índice aritmético calculado; A.a (*Artemisia annua*); A.b (*A. absinthium*); A.c (*A. camphorata*); A.d (*A. dracunculus*) e A.v (*A. vulgaris*)

4.3.2. Atividade larvicida do óleo essencial

Na dose de 100 ppm os óleos essenciais de *A. camphorata* causou 100% de mortalidade as larvas de *A. aegypti*. Esta mortalidade foi semelhante a aquela causada pelo padrão de eficiência (Azamax®).

O óleo essencial de *A. vulgaris* causou baixa mortalidade (33%) as larvas de *A. aegypti* enquanto que nesta dose os óleos essenciais de *A. dracunculus*, *A. annua* e *A. absinthium* não apresentaram efeito inseticida sobre as larvas de *A. aegypti* causando mortalidade que não diferiram do controle (**Figura 4.1**). Aplicação larvicida é um método eficaz para reduzir a densidade de mosquitos no seu habitats antes que eles surgem como adultos (Cheah *et al.*, 2013).

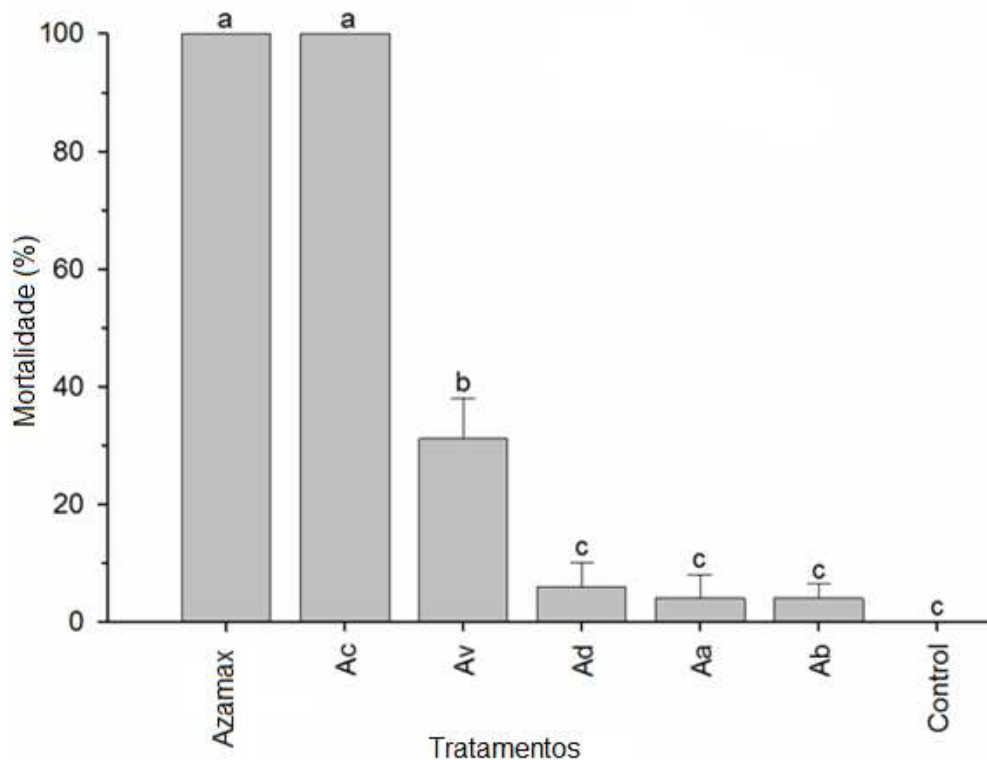


Figura 4.1. Mortalidade (média \pm erro padrão) de larvas de quarto ínstar de *Aedes aegypti* após 48 horas de exposição a soluções com concentração de 100 ppm dos tratamentos. Aa (*A. annua*), Ab (*A. absinthium*), Ac (*A. camphorata*), Ad (*A. dracunculus*) e Av (*A. vulgaris*). Médias seguidas pela mesma letra não diferem, entre si, pelo teste Tukey a $p < 0.05$.

Franzios *et al.* (1997) sugeriram que na atividade inseticida dos óleos essenciais seus diferentes constituintes podem agir e interagir independentemente ou em sinergicamente ou antagonicamente. Além disso, esta atividade inseticida é dependente da absorção do óleo essencial pela superfície do corpo do inseto.

Os óleos essenciais são lipofílicos e passam através da parede celular e da membrana citoplasmática, afetam a estrutura das suas diferentes camadas de polissacáridos, ácidos graxos, fosfolípidos e a citotoxicidade parece incluir tais danos a essas membranas (Bakkali & Idaomar, 2008).

Foi observado que após a aplicação das maiores concentrações do óleo essencial de *A. camphorata* em que as larvas de *A. aegypti* se movimentaram de forma agitada e logo após morreram. As concentrações do óleo essencial foram significativas (**Figura 4.2**).

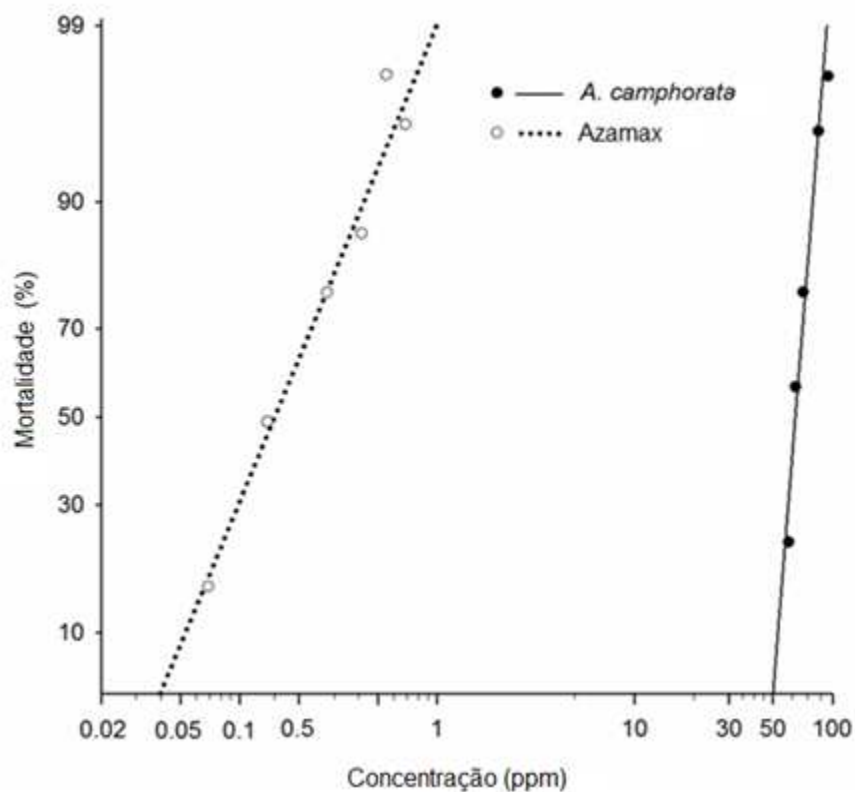


Figura 4.2. Curvas concentração-mortalidade de Azamax® (padrão de eficiência) e do óleo *A. camphorata* para larvas de quarto ínstar de *Aedes aegypti* após 48 horas de exposição.

As CL_{50} e CL_{95} do padrão de eficiência (Azamax®) foram menores do que as do óleo essencial de *A. camphorata*. A potência de um inseticida é inversamente proporcional as suas concentrações letais. Assim, o padrão de eficiência foi cerca de cem vezes mais potente que o óleo essencial de *A. camphorata* no controle das larvas de *A. aegypti*. A viabilidade de uso de um produto como inseticida depende de uma série de fatores como sua eficiência de controle de praga, a viabilidade econômica de sua produção, sua toxicidade ao organismo não-alvo, sua persistência no ambiente e sua toxicidade ao homem (**Tabela 4.2**).

Tabela 4.2. Curvas concentração-mortalidade de Azamax® (padrão de eficiência) e do óleo *A. camphorata* para larvas de quarto ínstar de *Aedes aegypti* após 48 horas de exposição.

Tratamento	y	χ^2	gl	P	CL_{50}^a (ppm)	CL_{95}^a (ppm)
<i>A. camphorata</i>	$-26,41 + 14,57x$	3,37	3	0,34	64,95 (62,02 – 67,38)	74,18 (71,41 – 78,11)

y: equação da curva; χ^2 : teste de qui-quadrado; gl: graus de liberdade; P: probabilidade; CL₅₀ e CL₉₅: concentrações letais para 50% e 95% dos indivíduos, respectivamente; ^a Os números entre parênteses representam o intervalo de confiança a 95%.

O resultado do presente trabalho revelou que óleo essencial de *A. camphorata* teve efeito larvicida significativo contra *A. aegypti*. Em outros trabalhos foram relatados ação positiva do óleo essencial de *Zingiber officinalis* contra *A. aegypti* com CL₅₀=154 ppm (Khandagle *et al.*, 2011). Segundo Waliwitiya *et al.* (2009), os valores relatados CL₅₀ de óleos essenciais podem variar grandemente, dependendo da sua composição química, da espécie de planta, da parte da planta extraída, da maturidade e do método de extração.

Os óleos essenciais contêm muitos compostos diferentes, que podem interagir de forma aditiva, e sinergicamente ou antagonicamente na atividade larvicida. Estudos sobre o modo de ação ou as interações sinérgicas dos principais constituintes dos óleos essenciais podem ajudar a explicar por que essas combinações são mais tóxicas para as larvas (Waliwitiya *et al.*, 2009).

4.3.3. Sinergismo

O óleo essencial de *A. camphorata* (84,14%) manteve o alto índice de mortalidade de larvas de *A. aegypti* em comparação aos demais tratamentos. O óleo puro 1,8-cineol (11,50%), borneol (6,14%) e a mistura 1,8-cineol e borneol (16,17%) não diferiram do controle (6,14%). A composição relativa dos compostos principais no óleo essencial e na mistura foi equivalente à concentração destes constituintes na amostra de óleo essencial de *A. camphorata* (**Figura 4.3**).

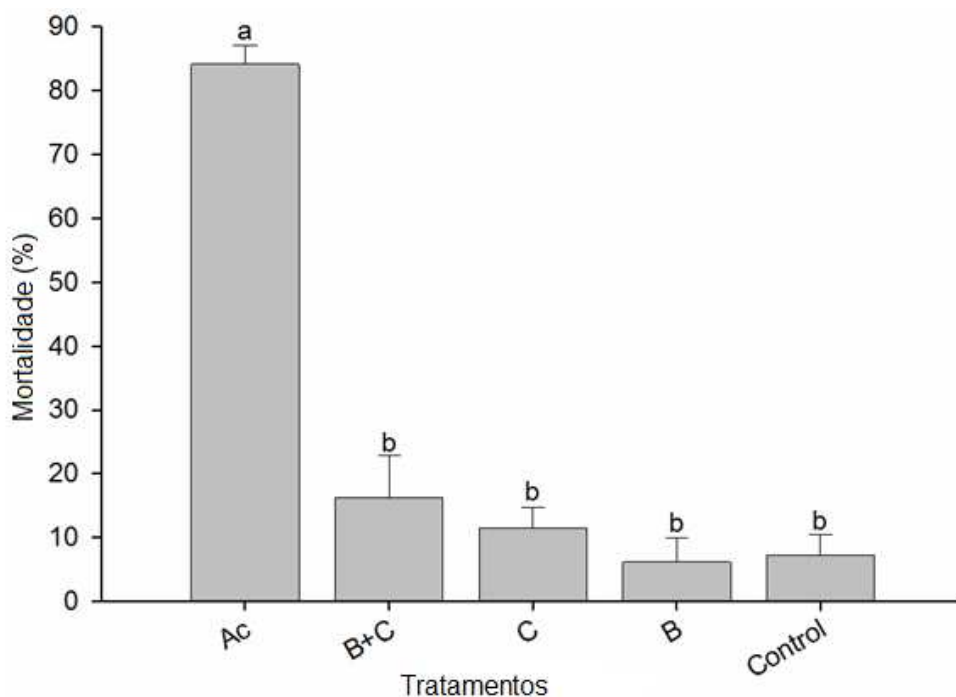


Figura 4.3. Mortalidade (média \pm erro padrão) de larvas de quarto ínstar de *Aedes aegypti* após 48 horas de exposição a soluções contendo o óleo de *A. camphorata* (Ac) e os seus constituintes majoritários (B = borneol e C= 1,8-cineol). A concentração do óleo utilizada foi de 90 ppm (CL_{95}) e a dos constituintes na proporção dessa concentração representada por eles (11,03 ppm para 1,8-cineol e 9,23 para borneol). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a $p < 0.05$.

Com esse estudo, verifica-se que os constituintes utilizados na mistura não são responsáveis pela atividade larvicida. Dessa forma, a atividade larval está relacionada com outros constituintes do óleo essencial de *A. camphorata*. Segundo Kiran et al. (2006) um dos componentes do óleo essencial de *A. camphorata* que possui ação larvicida é o germacreno D.

De acordo com Silva et al. (2005), o óleo essencial de *Hyptis martiusii* constituído por 24,31% de 1,8-cineol na concentração de 100 ppm promoveu a mortalidade em 100% de larvas de *A. aegypti*.

4.4. CONCLUSÃO

Neste estudo, comprovou-se o potencial de uso do óleo de *A. camphorata* como larvicida para controle de *Aedes aegypti*. Assim, para dar prosseguimento a este trabalho são necessários estudos de campo visando o uso destes óleos no controle desta praga.

4.5. REFERÊNCIAS

- Adams, R.P. (2007) Identification of essential oil components by gas chromatography /mass spectrometry. 4^a. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, USA.
- Araujo, A.F.O., Ribeiro-Paes, J.T., Deus, J.T. Larvicidal activity of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their antagonistic effects with temephos in resistant populations of *Aedes aegypti*. Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro. **2016**, v.111, p.443–449.
- Bakkali, F., Idaomar, M. Biological effects of essential oils – A review. Industrial Crops and Products. **2008**, v.46, p.446–475.
- Boletim Epidemiológico de **2015**. Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, 46, n.33. ISSN 2358-9450, 2015
- Cheah, S.X., Tay, J.W., Chan, L.K., Jaal, Z. Larvicidal, oviposition, and ovicidal effects of *Artemisia annua* (Asterales: Asteraceae) against *Aedes aegypti*, *Anopheles sinensis*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Parasitology Research. **2013**, v.112, p.3275–3282.
- Costa, J.G.M., Rodrigues, F.F.G., Angélico, E.C. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. Revista Brasileira de Farmacognosia. **2005**, v.15, p.304–309.
- El-Sheikh, Tarek, M.Y., Al-fifi, Z.I.A., Alabboud, M. A. Larvicidal and repellent effect of some *Tribulus terrestris* L., (Zygophyllaceae) extracts against the dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Journal of Saudi Chemical Society. **2012**, v.20, n.1, p.13–19.
- Franzios, G., Mirotsoy, M., Hatziapostolou, E. Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **1997**, v.45, p.2690–2694
- Gonzalez-coloma, A., Bailen, M., Diaz, C.E. Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations : Antifeedant antiparasitic and antioxidant effects. Industrial Crops and Products. **2012**, v.37, p.401–407.
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswary, M., Yogalakshmi, K. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum*

- (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental Parasitology*. **2013**, v.134, p.7–11.
- Karimi, A., Hadian, J., Farzaneh, M., Khadivi-khub, A. Phenotypic diversity and volatile composition of Iranian *Artemisia dracunculus*. *Industrial Crops and Products*. **2015**, v.65, p.315–323.
- Kiran, S.R., Bhavani, K., Sita, Devi P. Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Bioresource Technology*. **2006**, v.97, p.2481–2484.
- Maria, G., Silva, V. Atividade larvica de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*. **2005**, v.34, p.843–847.
- Nerio, S.L., Olivero-verbel, J., Stashenko, E. Repellent activity of essential oils : A review. *Bioresource Technology*. **2010**, v.101, p.372–378.
- Omena, M.C., Navarro, D.M.A.F., Paula, J.E. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants. *Bioresource Technology*. **2007**, v.98, p.2549–2556.
- OMS - Organização Mundial de Saúde. Diretrizes para testes de laboratório e de campo de larvicidas mosquito. **2005**. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69101/1/WHO_CDS_WHOPES_GCDPP_2005.13.pdf
- Organização Mundial da Saúde, Genebra (**2015**) [Online] Disponível a Partir de:http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69101/1/who_cds_whopes_gcdpp_2005.13.pdf [acessado em 20 de abril de 2016]
- Prajapati, V., Tripathi, A.K., Aggarwal, K.K., Khanuja, S.P.S. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **2005**, v. 96, p.1749–1757.
- Rajkumar, S., Jebanesan, A. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against the chikungunya vector, *Aedes aegypti* Li. (Diptera: Culicidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*. **2010**, v.13, p.107–109.

- Reegan, A.D., Kannan, R.V., Paulraj, M.G., Ignacimuthu, S. Synergistic effects of essential oil-based cream formulations against *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*. **2014**, v.17, p.327–331.
- SAS Institute (**2008**) SAS User's Guide: Statistics. SAS Institute, Cary,NC, USA.
- Silva, W.J., Dória, G.A.A., Maia, R.T. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. *Bioresource Technology*. **2008**, v.99, p.3251–3255.
- Waliwitiya, R., Kennedy, C.J., Lowenberger, C.A. Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, trans-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science*. **2009**, v.65, p.241.
- Williams, J.D., Campbell, M.A., Jaskolka, M.C., Xie, T. *Artemisia vulgaris* L . Chemotypes. *American Journal Science Plant*. **2013**, v. 4, p.1265–1269.
- World Health Organization (WHO). Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. **2015**
- Yao, L., Bo, H. Essential Oil Composition of Kitag from Qinghai-Tibetan Plateau of China. *Journal of Analytical Sciences*. **2016**, v.6, p.1–5.
- Zhigzhitzhapova, S.V., Dorzhievna, L., Gao, Q. Chemical composition of volatile organic compounds of *Artemisia vulgaris* L . (Asteraceae) from the Qinghai – Tibet Plateau. *Industrial Crops and Products*. **2016**, v.83, p.462–469.

APÊNDICE

2

5

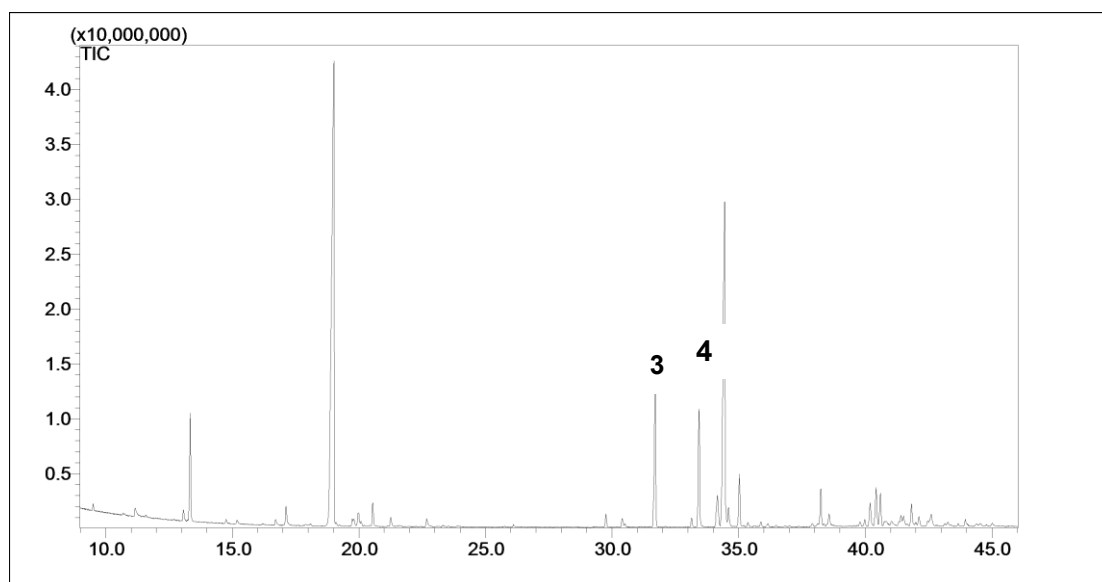


Figura 1A. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Artemisia annua* com dose NPK (D2) aos 125 DAT. 1: 1,8-cineol (2,86%); 2: cânfora (31,79%); 3: *E*-cariofileno (7,79%); 4: (*E*)- β -farneseno (5,15%); 5: Germacreno D (20,99%).

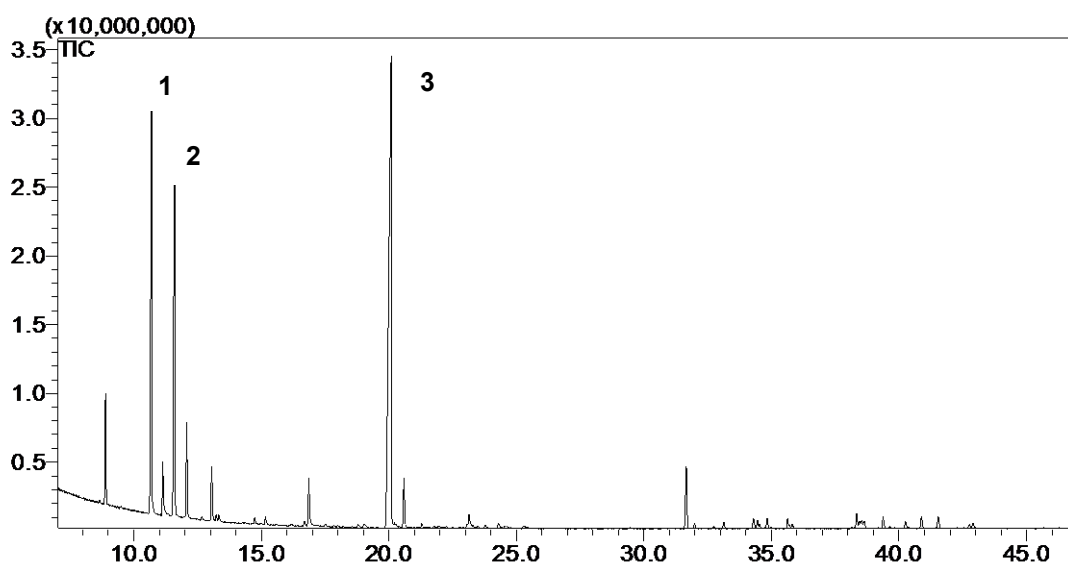


Figura 1B. Cromatograma do OE das folhas de *Artemisia absinthium* com dose NPK (D2) aos 125 DAT. 1: β -pineno (15,21%); 2: mirceno (17,55%); 3: *Z*-isocitral (21,56%).

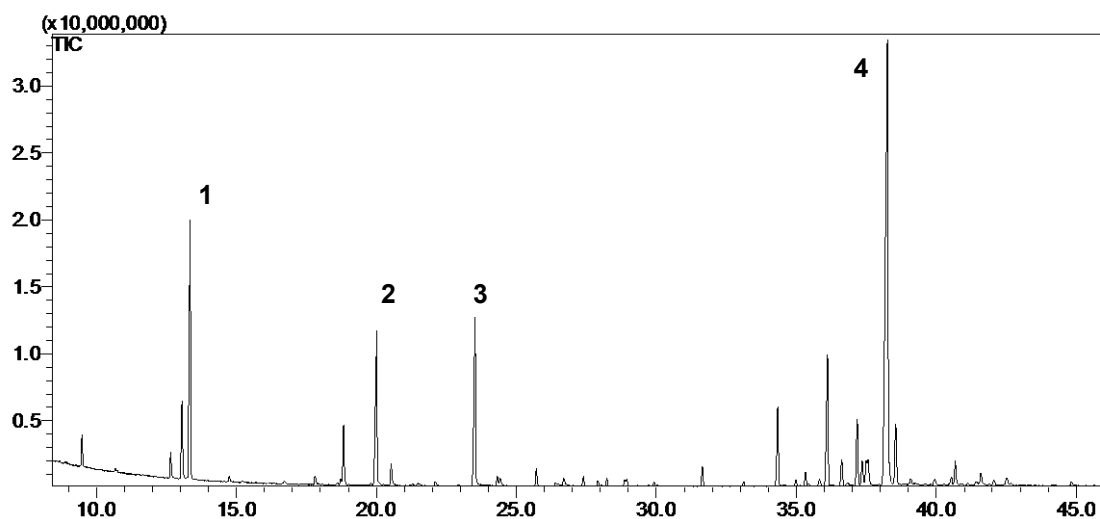


Figura 1C. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Artemisia camphorata* com dose NPK (D2) aos 125 DAT: **1:** 1,8-cineol (12,25%); **2:** borneol (10,22%); **3:** ascaridol (10,27%); **4:** germacreno D-4-ol (21,35%).

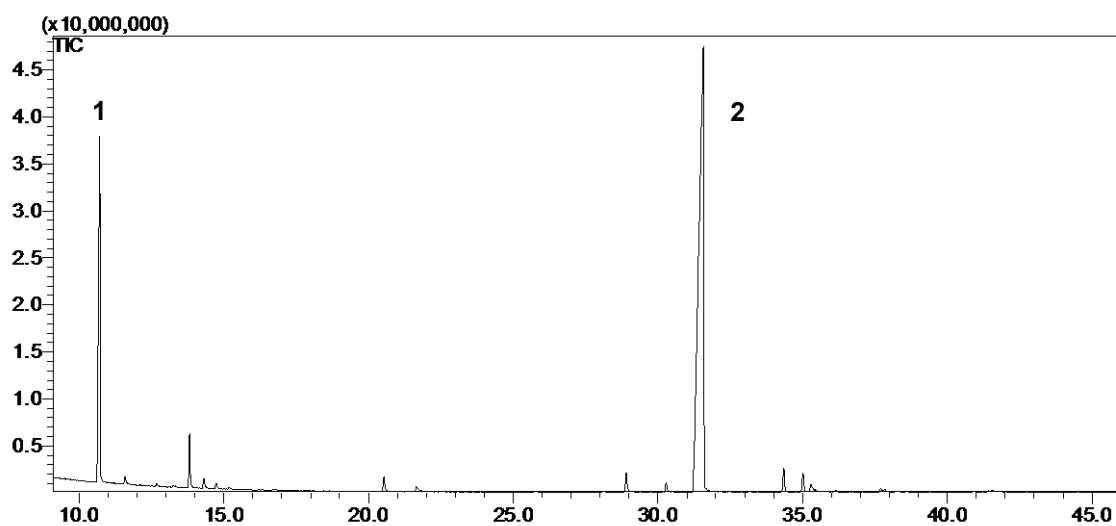


Figura 1D. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Artemisia dracunculoides* com dose NPK (D2) aos 125 DAT: **1:** β -pineno (25,26%); **2:** metileugenol (57,04%).

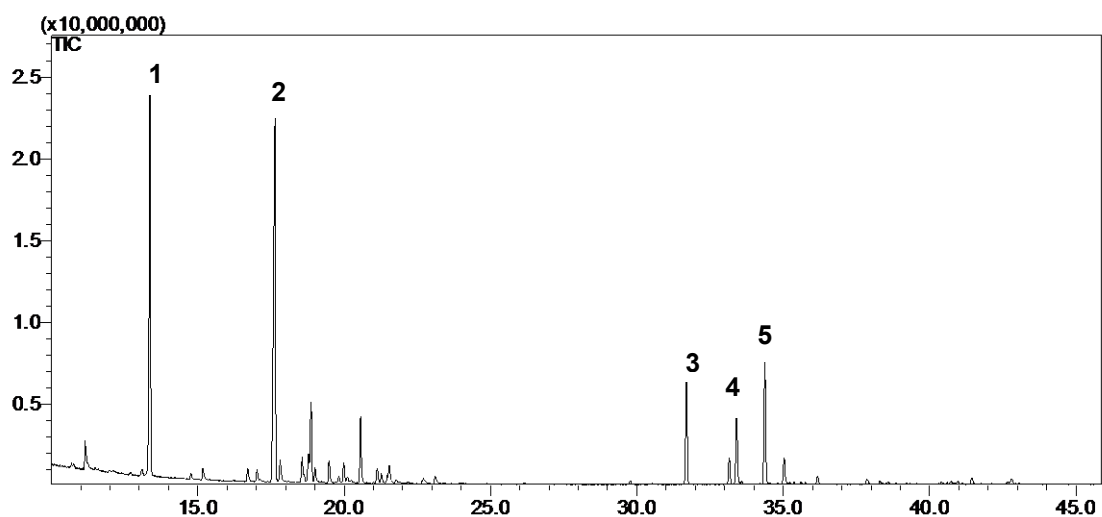


Figura 1E. Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Artemisia vulgaris* com dose NPK (D2) aos 125 DAT: **1:** 1,8-cineol (19,05%); **2:** *trans*-tujona (31,05%); **3:** *E*-cariofileno (6,29%); **4:** *E*- β -farneseno (3,26%); **5:** Germacreno D (6,04%).

Tabela 1A. Equações de regressão nas variáveis: altura (cm), diâmetro do caule (cm), massa fresca e seca das folhas (g) em cinco espécies de *Artemisia* spp. em duas épocas de colheita (60 e 125 DAT).

Variável	Época de Colheita	Equação de Regressão	R ²
<i>Artemisia annua</i>			
Altura (cm)	60 DAT	$y = -9.9175x^2 + 31.654x + 92.313$	0.69
	125 DAT	$y = -6.75x^2 + 15.15x + 142.65$	0.68
Diâmetro (cm)	60 DAT	$y = -0.37x^2 + 1.362x + 2.522$	0.87
	125 DAT	$y = -0.375x^2 + 1.075x + 4.575$	0.83
Massa Fresca (g)	60 DAT	$y = -4.5675x^2 + 32.805x + 28.76$	0.96
	125 DAT	$y = -35.915x^2 + 118.18x + 93.849$	0.88
Massa Seca (g)	60 DAT	$y = -3.6225x^2 + 16.665x + 6.3295$	0.83
	125 DAT	$y = -13.467x^2 + 44.423x + 35.368$	0.78
<i>Artemisia absinthium</i>			
Altura (cm)	60 DAT	$y = -1.5825x^2 + 6.1785x + 29.183$	0.60
	125 DAT	$y = -0.83x^2 + 2.09x + 41.1$	0.94
Diâmetro (cm)	60 DAT	$y = 1.2x + 8.2$	0.91
	125 DAT	$y = 1.25x^2 - 2.45x + 16.55$	0.78
Massa Fresca (g)	60 DAT	$y = -7.1125x^2 + 42.579x + 68.533$	0.98
	125 DAT	$y = -15.25x^2 + 58.45x + 144.95$	0.51
Massa Seca (g)	60 DAT	$y = -0.97x^2 + 8.378x + 16.063$	0.97
	125 DAT	$y = -1.3441x^2 + 5.2246x + 39.219$	0.58
<i>Artemisia camphorata</i>			

Altura (cm)	60 DAT	$y = -2.58x^2 + 13.64x + 26.65$	0.58
	125 DAT	$y = -2.1675x^2 + 11.502x + 38.166$	0.60
Diâmetro (cm)	60 DAT	$y = -1.425x^2 + 5.385x + 4.235$	0.79
	125 DAT	$y = 0.41x^2 + 1.441x + 1.889$	0.92
Massa Fresca (g)	60 DAT	$y = -9.4375x^2 + 39.756x + 14.34$	0.74
	125 DAT	$y = -22.5x^2 + 60.5x + 105.5$	0.78
Massa Seca (g)	60 DAT	$y = -1.9125x^2 + 8.6725x + 3.6325$	0.69
	125 DAT	$y = -2.3215x^2 + 8.6803x + 36.423$	0.54
<i>Artemisia dracunculus</i>			
Altura (cm)	60 DAT	$y = -5.0825x^2 + 21.615x + 53.614$	0.90
	125 DAT	$y = 0.8325x^2 + 8.9015x + 61.566$	0.80
Diâmetro (cm)	60 DAT	$y = 0.01x^2 + 0.392x + 0.802$	0.97
	125 DAT	$y = -0.625x^2 + 3.425x + 3.175$	0.95
Massa Fresca (g)	60 DAT	$y = -6.7425x^2 + 51.115x + 18.949$	0.98
	125 DAT	$y = 52.694x^2 - 107.92x + 148.48$	0.96
Massa Seca (g)	60 DAT	$y = -1.8425x^2 + 12.593x + 4.1325$	0.99
	125 DAT	$y = 11.367x^2 - 22.466x + 31.544$	0.98
<i>Artemisia vulgaris</i>			
Altura (cm)	60 DAT	$y = -7.25x^2 + 28.784x + 49.114$	0.87
	125 DAT	$y = 0.585x^2 - 5.389x + 109.45$	0.61
Diâmetro (cm)	60 DAT	$y = 0.025x^2 + 0.07x + 1.497$	0.71
	125 DAT	$y = -0.025x^2 + 0.055x + 1.845$	0.68
Massa Fresca (g)	60 DAT	$y = -4.0575x^2 + 44.148x + 14.747$	0.99
	125 DAT	$y = -70.25x^2 + 228.05x + 239.55$	0.87
Massa Seca (g)	60 DAT	$y = -1.5825x^2 + 11.905x + 3.6795$	0.99
	125 DAT	$y = -9.25593x^2 + 35.611x + 49.353$	0.99

DAT = dias após o transplante