

ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CUTÍCULA DE *TETRANYCHUS EVANSI* BACKER & PRITCHARD Y DE *TETRANYCHUS URTICAE* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)*

Alberto Soto G.¹, Márcio Dionízio Moreira² y Angelo Pallini³

Resumen

El análisis de la composición química de los artrópodos es importante en la taxonomía, en el reconocimiento de especies de difícil diferenciación, en la ecología, en el comportamiento, en el estudio de la selectividad de compuestos naturales y artificiales y, por consiguiente, importante en el control de plagas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la composición química de la cutícula de los ácaros *T. urticae* y *T. evansi*. Se realizaron análisis cromatográficos de los extractos por Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Gases (CGMS). La identificación de los compuestos fue realizada por comparación de los tiempos de retención con patrones, en el cálculo del índice de Kovats y análisis de los espectros de masa obtenidos para cada pico registrado en el cromatograma. Se evaluó la concentración relativa de los compuestos presentes en la cutícula, la polaridad de esos compuestos y su concentración total relativa, y la presencia diferencial de compuestos en la cutícula de las dos especies de ácaros. Los compuestos más abundantes en la cutícula de las dos especies de ácaros fueron el ácido hexadecanoico (ácido palmítico), ácido 9,12-octadecadienoico (ácido linoleico), ácido 9,12,15-octadecatrienoico-metil ester (metil linoleato) y ácido octadecanoico (ácido oleico o esteárico). La cutícula de *T. urticae* tiene de 2,07 a 3,67 veces más compuestos extraíbles por hexano que la cutícula de *T. evansi*. El total de compuestos polares fue 2,15 a 3,71 veces mayor en *T. urticae* y la cantidad de los compuestos más abundantes, presentes en las dos especies, fueron 2,34 a 5,66 veces mayor en *T. urticae*.

Palabras clave: cromatografía gaseosa, espectrometría de masas, índice de Kovats, selectividad.

ANALYSIS OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF THE *TETRANYCHUS EVANSI* BAKER & PRITCHARD AND *TETRANYCHUS URTICAE* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) CUTICLE

Abstract

The analysis of arthropods chemical composition is important in taxonomy for recognition of species difficult to differentiate, in ecology, for behavioral analyses, and in selectivity studies of artificial and natural compounds, and, therefore, it is important for pest control. The objective of this study was to evaluate the chemical composition of the *T. urticae* and *T. evansi* mites cuticle. Chromatographic analyses of extracts were performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (CGMS). Identification of compounds was based on the comparison of retention times with standards, on the Kovats' index calculation and the analysis of mass spectra obtained for each registered peak on the chromatogram. Relative concentration of compounds present in the cuticle, the polarity of these compounds

* FR: 10-V-2011. FA: 10-X-2011

¹ I.A., M.Sc., Ph.D. Departamento de Produção Agropecuária, Faculdade de Ciências Agropecuárias, Universidade de Caldas. E-mail: alberto.soto@ucaldas.edu.co

² I.A., M.Sc., Ph.D. Universidade Federal de Viçosa. E-mail: mdmoreira@ufv.br

³ I.A., M.Sc., Ph.D. Universidade Federal de Viçosa. E-mail: pallini@ufv.br

and their total relative concentration, and the differential presence of compounds in the cuticle of the two mite species were evaluated. The most abundant compounds in the cuticle of both mite species were hexadecanoic acid (palmitic acid), 9,12-octadecadienoic acid (linoleic acid), 9,12,15-octadecatrienoic acid-methyl ester (methyl linoleate) and octadecanoic acid (oleic acid or stearic). *T. urticae* cuticle has from 2.07 to 3.67 times more hexane extractable compounds than *T. evansi* cuticle. The total polar compound concentration was 2.15 to 3.71 times higher in *T. urticae* and the quantity of the most abundant compounds present in both species was 2.34 to 5.66 times higher in *T. urticae*.

Key words: mass chromatography, mass spectrometry, Kovats' index, selectivity.

INTRODUCCIÓN

Entre los ácaros fitófagos, el ácaro rayado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) es considerado una de las más importantes plagas agrícolas, infestando diversos cultivos, causando reducción del área fotosintética, disminución de la producción y productividad de muchos cultivos anuales, frutales y hortalizas (HELLE & SABELIS, 1985; MORAES & FLECHTMANN, 2008).

Cuando esta plaga no se maneja de forma adecuada puede reducir la producción de fresa hasta un 80%, en la fase máxima de desarrollo de la población (CHIAVEGATO & MISCHAN, 1981). El ácaro rojo *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) es considerado plaga importante del cultivo de tomate, se caracteriza por su alta capacidad reproductiva, lo que lleva a alcanzar altas poblaciones en corto tiempo y ocasionar daños económicos (MALUF *et al.*, 2001; SARMIENTO, 2003; GUANILO, 2007). El control de esos ácaros es realizado principalmente a través de productos convencionales, sin embargo, el uso frecuente e indiscriminado de estos productos ha llevado a la presencia de altos niveles de residuos tóxicos en los alimentos, desarrollo de poblaciones resistentes, intoxicación de mamíferos, destrucción de organismos benéficos y contaminación del ambiente (FILGUEIRA, 2000; SATO *et al.*, 2000; FRAGOSO *et al.*, 2002; PICANÇO *et al.*, 2007).

La cutícula hace parte del esqueleto de los artrópodos, la cual tiene función de soporte para los músculos y otras estructuras como alas, glándulas, pelos, tracto digestivo, entre otras; confiere protección mecánica, química y biológica a los tejidos vivos del medio externo, restringe la pérdida de agua, refleja la luz, confiere coloración y tiene función en el reconocimiento ínter y extra específico (PAGE *et al.*, 1990; BIDOCHKA & KHACHATOURIANS, 1997; GULLAN & CRANSTON, 1998; MURATORI *et al.*, 2006; YE *et al.*, 2007). También es importante en el reconocimiento de especies, proporcionando respuestas comportamentales en artrópodos sociales y gregarios (NELSON *et al.*, 1988; PHILLIPS *et al.*, 1990; THORNE *et al.*, 1994; MAHAMAT & MIN, 2000; NELSON & CHARLET, 2003). La endocutícula está compuesta de quitina y proteínas siendo poco esclerotizada y, por tanto, suave y flexible. La exocutícula está compuesta de quitina y proteínas, siendo esclerotizada y se presenta rígida. Estas dos capas aún pueden contener compuestos como melanina y resilina que confieren coloración y flexibilidad. La capa más externa, la epicutícula, tiene como principales constituyentes proteínas, glicoproteínas, que pueden ser esclerotizadas por quinonas, camada cerosa y lípidos, especialmente hidrocarburos como alcanos y alquenos los cuales

constituyen más del 90% de los lípidos (NATION, 2002; YE *et al.*, 2007). Entretanto, otros compuestos pueden ser encontrados tales como ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, alcoholes, cetonas, aldehídos, esteroides, glicéridos y compuestos con grupos nitrilo (NATION, 2002). Compuestos como monoterpenos, rosefurano, nerol, neral, geraniol, entre otros, aún están presentes y han sido reportados en el ácaro, *Histiogaster rotundus* Woodring (Acari: Acaridae) (LAPOINTE *et al.*, 2004).

En virtud de la complejidad y variedad de compuestos que hacen parte de la cutícula, el análisis de su composición química es importante en la evolución y taxonomía, en el reconocimiento de una o más especies de difícil diferenciación, en la ecología, en el comportamiento de insectos, en el estudio de la selectividad de la cutícula a compuestos naturales y artificiales y, por consiguiente, importante en el manejo y control de plagas (LIEPERT & DETTNER, 1996; DOI *et al.*, 1997; ANYANWU *et al.*, 2000; HORNE & PRIESTMAN, 2002). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue estudiar la composición química de la cutícula de *T. urticae* y *T. evansi* que podrían explicar la ecología química intra e interespecífica, además ser la base en futuros trabajos que ayudarían a explicar la susceptibilidad a los productos químicos utilizados para el control de estas dos especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los extractos cuticulares

Los ácaros *T. evansi* y *T. urticae* fueron criados en invernadero de la Universidad Federal de Viçosa (Brasil), en plantas de tomate variedad Santa Clara y de fresa variedad IAC Campinas con 30 días de edad, acondicionadas en vasos, dentro de jaulas (10 x 50 x 90 cm) y confeccionadas con armazón de madera con tela de organza para aislar las colonias y evitar contaminación por otros artrópodos. Las crías fueron iniciadas con ácaros colectados en campo en los municipios de Tocantins y Barbacena, Minas Gerais (Brasil). Las hojas de tomate y fresa que contenían los ácaros, fueron levemente golpeadas con un pincel sobre una bandeja plástica, donde los ácaros fueron recogidos y en seguida transferidos para frascos de borocilicatos con tapas rosqueables. Este procedimiento fue hecho para evitar el contacto directo de los ácaros y posible heridas de los mismos, lo que llevaría a la extracción de compuestos del interior de los ácaros y no los compuestos cuticulares externos que son los de interés. Los ácaros fueron pesados y posteriormente fueron sometidos a la extracción, utilizando una suficiente cantidad de solvente, hexano o cloroformo, para cubrir los ácaros. La extracción de los compuestos cuticulares externos fue hecha con los solventes hexano y cloroformo durante 24 horas para la selección del solvente y determinar si existía una posible ruptura de la cutícula de los ácaros. Los solventes muy polares como el alcohol no extraen bien hidrocarburos de la cutícula por ser totalmente apolares, por esta razón fue evaluado el hexano y el cloroformo.

Después de seleccionar el solvente, se realizó una nueva extracción considerando los tiempos de 5 y 60 minutos. Estas extracciones fueron realizadas con el solvente hexano y con los ácaros recolectados como se describió anteriormente. Después de 5 minutos de extracción el solvente que contenía el extracto fue removido y

nueva cantidad de solvente fue adicionada a los ácaros y se dejaron extraer por 60 minutos más. El solvente que contenía el extracto fue concentrado en evaporador rotativo a baja presión y temperatura reducida (<50), pesado y transferido para un frasco, seco en nitrógeno gaseoso y almacenado a temperatura inferior a 0. Para la extracción de los compuestos cuticulares de los ácaros fue utilizado para el análisis el tiempo de extracción de 5 minutos, ya que la gran mayoría de autores consideran entre 1 a 5 minutos como tiempos óptimos de extracción (ANYANWU *et al.*, 2000; HORNE & PRIESTMAN, 2002).

Análisis de los extractos por Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas (CGMS)

Los análisis cromatográficos fueron realizados en el Laboratorio de Análisis y Síntesis de Agroquímicos (LASA) del Departamento de Química de la Universidad Federal de Viçosa (UFV). Los extractos obtenidos fueron diluidos en la concentración de 1 mg/ml. Una fracción de 1 µl fue utilizada para inyección en Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas (CGMS) utilizando razón de Split de 1/5. Los análisis fueron hechos en un equipo Shimadzu GCMS-QP5050A 70 eV. Los picos fueron escaneados de 50-700 m/e. La columna capilar utilizada fue DB-5 (30 m x 0,32 mm.i.d.) teniendo el helio como fase móvil. La programación utilizada fue: 75 °C hasta 150 °C aumentándose de 25 °C min.⁻¹, seguido de 150 hasta 320 °C aumentándose de 8 °C min.⁻¹ y finalmente se mantuvo la temperatura a 320 °C por 45 min (Adams, 1995; Horne & Priestman, 2002).

Identificación de los compuestos cuticulares

La identificación de los compuestos presentes en la cutícula fue hecha con base en la comparación de los tiempos de retención con patrones específicos, utilizando el índice de Kovats, y los análisis de los espectros de masa obtenidos para cada pico y registrados en el cromatograma se compararon con los espectros de masa de los compuestos presentes en la biblioteca del CGMS.

Cálculo del índice de Kovats

El índice de Kovats es un índice de retención que describe el comportamiento de retención de un compuesto de interés comparativamente al de una mezcla de hidrocarburos saturados, alcanos, de diferentes números de carbono. El índice de Kovats expresa el número de átomos de carbono multiplicado por 100, de un alcano hipotético de cadena normal que tendría un tiempo de retención ajustado idéntico al del pico de interés cuando es analizado sobre condiciones idénticas. El índice de Kovats fue calculado conforme a la ecuación (KOVATS, 1965):

$$KI = 100Z + \frac{100[(\log t'R^X) - (\log t'R^Z)]}{(\log t'R^Z + 1) - (\log t'R^Z)}$$

Donde:

X es el compuesto de interés;

$t'R^X$ es el tiempo de retención ajustado de X;

Z es el número de átomos de carbonos del alcano con tiempo de retención inmediatamente inferior al de X;

$t'R^Z$ es el tiempo de retención ajustado de Z;

$t'R^Z + 1$ es el tiempo de retención ajustado del alcano con tiempo de retención inmediatamente superior al de Z.

Los parámetros evaluados para la diferenciación de la composición de la cutícula de los ácaros fueron: la concentración relativa de los compuestos presentes en la cutícula de los ácaros, la polaridad de los compuestos presentes en la cutícula y su concentración total relativa, y la presencia diferencial de compuestos en la cutícula de las dos especies de ácaros.

RESULTADOS

Los resultados cromatográficos obtenidos revelan que de los solventes evaluados, el hexano fue el que presentó la extracción de mayor cantidad de compuestos cuticulares (Figura 1). Para el ácaro *T. evansi* fue observado que el extracto producido con el solvente hexano poseía 57 picos contra 48 picos presentes en el cromatograma del extracto utilizando el solvente cloroformo (Figura 1A y 1B). Para *T. urticae* fue observado 81 y 37 picos para los extractos hexánicos y clorofórmicos, respectivamente (Figura 1C y 1D). En la Figura 1 los compuestos fueron numerados secuencialmente conforme a su elución en la columna para verificar el total de compuestos extraídos y detectados por el análisis y la numeración no corresponde a la identificación de los compuestos hecha en los análisis posteriores. Por tanto, el solvente hexano presentó mejor extracción de los compuestos cuticulares para ambas especies de ácaros y fue utilizado para las etapas posteriores de extracción y análisis de los compuestos cuticulares.

Tanto para la cutícula de *T. evansi* como para la cutícula de *T. urticae* se verificó que hubo mayor concentración de compuestos extraídos y presencia de mayor número de picos en la extracción de 24 horas seguido por la de 60 min y 5 min. Tal hecho puede ser verificado en la corriente de iones, la cual es proporcional a la concentración de los compuestos (Figura 2 y Figura 3) y fue respectivamente decreciente para los tiempos de 24 horas, 60 min y 5 min.

La presencia de gran número de picos de diversos compuestos de menor peso molecular presentes en *T. urticae* en la región de 4 a 7,5 min en los cromatogramas (Figura 1C y Figura 3A y 3B) probablemente indica la ruptura de la cutícula de este ácaro exponiendo los órganos y contenidos internos a la extracción por el solvente. Así, se optó por el análisis cuticular con extracción por los tiempos de 5 y 60 minutos y preferencialmente por el tiempo de 5 minutos por estar de acuerdo con las metodologías más utilizadas en la literatura.

La cantidad obtenida de los extractos de los ácaros fue dividida por los pesos de los ácaros. El extracto hexánico obtenido de *T. urticae* presentó una cantidad 3,67 veces mayor que el extracto obtenido para *T. evansi* con 5 min de extracción y 2,07 veces mayor en el tiempo de 60 min. En promedio considerándose los dos tiempos, *T. urticae* presentó una cantidad 2,60 veces mayor de extracto o compuestos

extraídos de la cutícula. Por lo tanto, la concentración de estos compuestos en la cutícula de *T. urticae* fue mayor que en la cutícula de *T. evansi*, resultado este que podría estar influenciando la susceptibilidad de estas diferentes especies a plaguicidas.

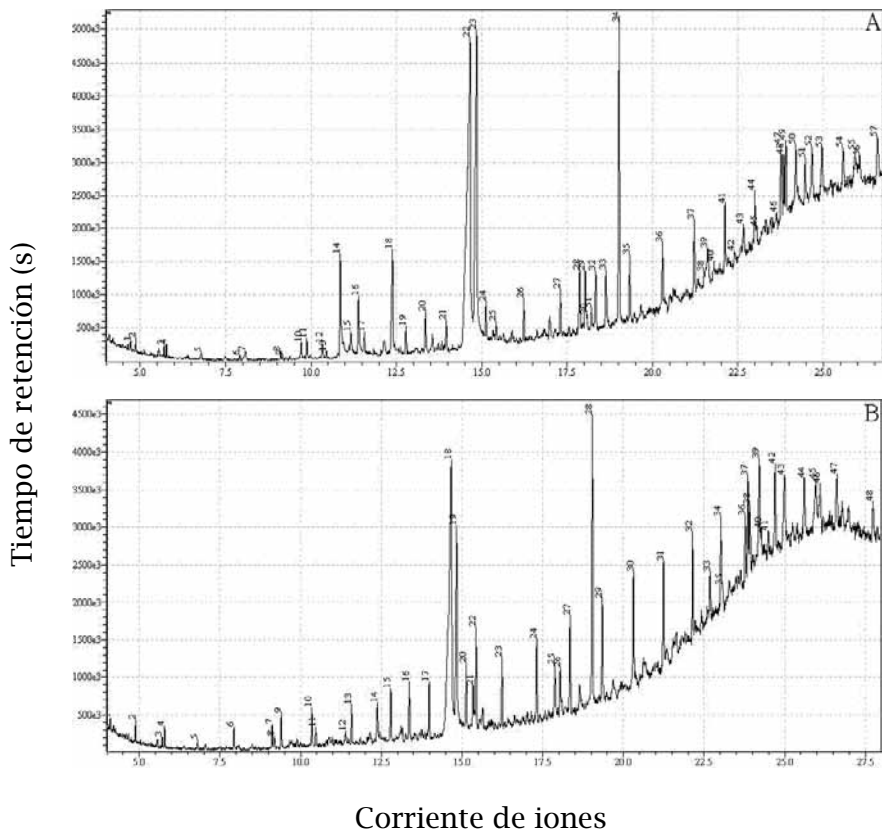


Figura 1. (A) y (B) Cromatogramas de los extractos (A) hexánicos y (B) clorofórmicos de la cutícula de *T. evansi*.

Todos los compuestos detectados en los análisis cromatográficos tuvieron su coeficiente de Kovats calculado, clasificados y numerados en orden creciente de acuerdo con el tiempo de retención e índice de Kovats (Anexo 1). De los 94 picos observados 38 fueron identificados con base en patrones de hidrocarburos (C_{12} a C_{34}), por medio de análisis de los espectros de masas de los compuestos, por comparación del índice de Kovats calculado y por comparación con el respectivo patrón del compuesto obtenido e inyectado posteriormente. Estuvieron presentes compuestos del grupo hidrocarburos (alcanos y alquenos), ácidos carboxílicos, y otros compuestos como alcoholes, cetonas, esteroides, además de otros no identificados y de naturaleza más compleja. La relación de los picos y de los compuestos identificados se encuentra en el Anexo 1. Se observa que los

compuestos polares, área total de los compuestos polares (ATCP), dentro de cada extracto fueron los más abundantes siendo responsables por 87,35% del área relativa en el extracto de *T. evansi* con extracción de 5 min, 94,83% área relativa en el extracto de *T. evansi* con extracción de 60 min y 88,22 y 97,63% del área relativa en los extractos de *T. urticae* en los tiempos de 5 y 60 min, respectivamente.

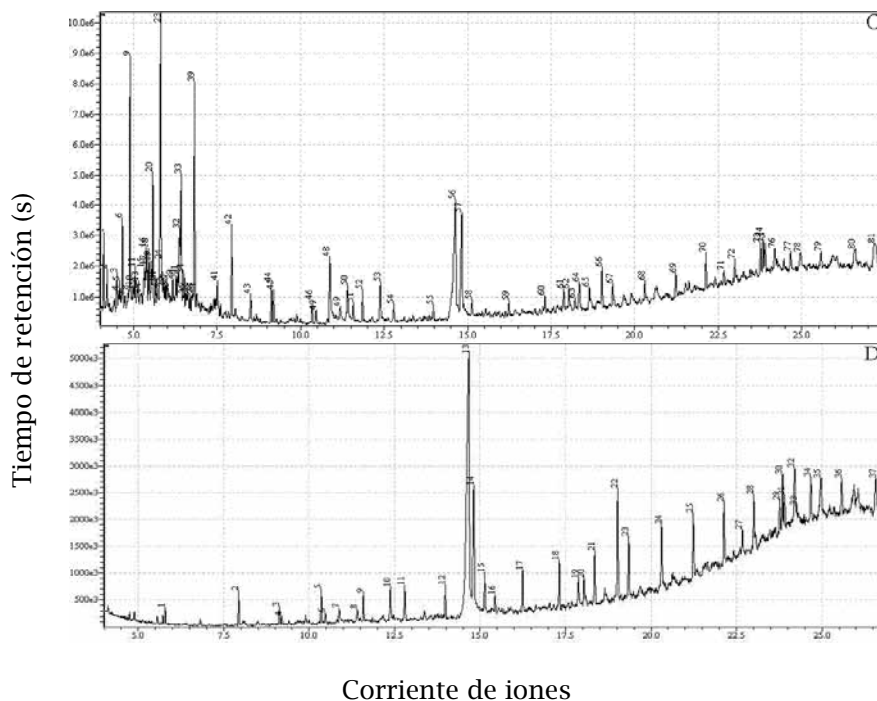


Figura 1. (C) y (D) Cromatogramas de los extractos (C) hexánicos y (D) clorofórmicos de la cutícula de *T. urticae*.

Los compuestos correspondientes a los picos 55, 59, 60 y 61 fueron los más abundantes y responsables por 56,37; 85,45; 86,19 y 96,51% del área total de los cromatogramas respectivamente para *T. evansi* con extracción de 5 min, *T. evansi* con extracción de 60 min, *T. urticae* con extracción de 5 min y *T. urticae* con extracción de 60 min (Anexo 1 y Anexo 2). En promedio tales compuestos fueron responsables por 70,91% de los compuestos cuticulares de *T. evansi* y 91,35% de los compuestos cuticulares de *T. urticae* (Anexo 1 y Anexo 2). Todos fueron caracterizados como ácidos carboxílicos y, por tanto, de naturaleza polar. Estos fueron identificados como ácido hexadecanoico (ácido palmítico), ácido 9,12-octadecadienoico (ácido linoleico), ácido 9,12,15-octadecatrienoico-metil ester (metil linoleato) y ácido octadecanoico (ácido oleico o esteárico) (Anexo 1), respectivamente para los picos 55, 59, 60 y 61.

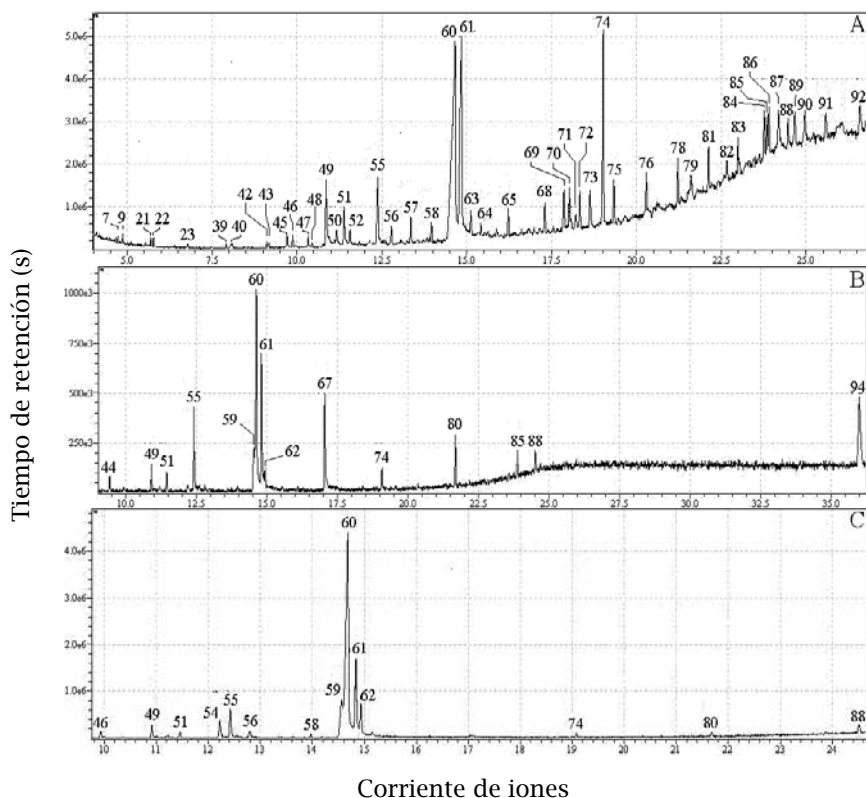


Figura 2. Cromatogramas de los extractos hexánicos de la cutícula de *T. evansi* sometidos a extracción por 24 horas (A), 5 min (B) y 60 min (C).

Hecho semejante ocurrió al comparar la cantidad de cada compuesto, que fue calculada y expresada por unidad de peso vivo de los ácaros (mg/g) (Anexo 3), donde se verifica que los compuestos correspondientes a los picos 55, 59, 60 y 61 fueron aún los picos más abundantes (PMA) representando la mayor porción del área total de todos los compuestos y fueron responsables por la casi totalidad de los compuestos polares (TCP). Este hecho fue más marcado en *T. urticae* donde estos compuestos representaron 97,72 y 97,80% del total de compuestos polares contra 64,07 y 90,09% en *T. evansi* (Anexo 3).

Al calcular la razón del total de compuestos polares (TCP) y picos más abundantes (PMA) de *T. urticae* por *T. evansi* (T.u 5 min/T.e 5 min y T.u 60 min/T.e 60 min) se verificó que TCP fue 2,15 a 3,71 veces mayor en *T. urticae* y que PMA fue 2,34 a 5,66 más concentrado en *T. urticae* (Anexo 3). Por tanto, los compuestos ácido hexadecanoico (ácido palmítico), ácido 9,12-octadecadienoico (ácido linoleico), ácido 9,12,15-octadecatrienoico-metil ester (metil linoleato) y ácido octadecanoico (ácido oleico o esteárico) fueron los más abundantes de la cutícula de estos ácaros, lo cual es un factor importante en la diferenciación de la constitución química, estando presentes en mayor cantidad en la cutícula de *T. urticae*.

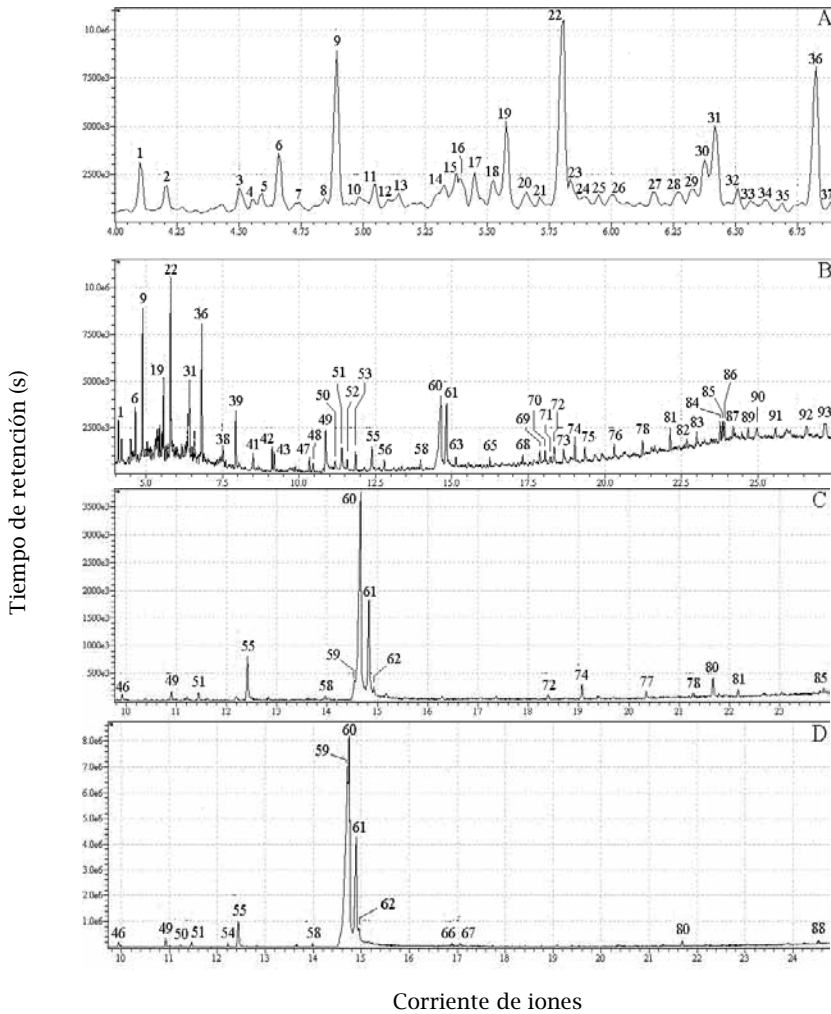


Figura 3. Cromatogramas de los extractos hexánicos de la cutícula de *T. urticae* sometidos a la extracción por 24 horas (**A y B**), 5 min (**C**) y 60 min (**D**). **A** corresponde a la expansión de la región de 4 a 7 min del cromatograma **B**.

Compuestos cuya curva en los cromatogramas no presentaron área, mas que se obtuvieron indicios de su presencia, como pico que se confundía con la línea de base del cromatograma mas cuya identidad fue determinada en el espectro de masas, fueron considerados presentando trazos de su presencia (Anexo 3). El compuesto del pico 94, no identificado (Figura 2B y Anexo 1) y de naturaleza polar (Anexo 2), estuvo presente apenas en los extractos de *T. evansi*, extracto de 5 min, representando hasta 15% de este extracto (Figura 2B y Anexo 2).

El compuesto relacionado por el pico 66 (Figura 3D y Anexo 1), químicamente no identificado y de naturaleza polar (Anexo 2), fue observado apenas en *T. urticae*, extracto de 60 min de extracción, donde representó 0,25% de este extracto (Anexo 2). Los compuestos correspondientes a los picos 72 (C25), 77 (no identificado), 78 (C28) y 81 (C29) (Figura 3C y Anexo 1), todos hidrocarburos apolares (Anexo 2), fueron detectados apenas en el extracto de *T. urticae* con 5 min de extracción, representando 3,34% de este extracto (Anexo 2 y Anexo 3).

DISCUSIÓN

El mejor poder de extracción del solvente hexano probablemente se debe al hecho de que gran parte de los compuestos de la cutícula serían hidrocarburos, alcanos y alquenos, y compuestos como ácidos carboxílicos, cetonas y alcoholes que presentan una larga cadena formada por carbono e hidrógeno lo que propicia también su extracción aunque se presentó una porción polar en la molécula compuesta por átomos de oxígeno. De hecho, el hexano es el solvente más comúnmente utilizado en la literatura para extracción de los compuestos cuticulares de artrópodos (NELSON *et al.*, 1988; ANYANWU *et al.*, 2000; YOUNG *et al.*, 2000; JOHNSON *et al.*, 2001; NELSON *et al.*, 2001; HORNE & PRIESTMAN, 2002).

En las extracciones de 24 horas tanto para *T. evansi* como para *T. urticae* se observó que hubo presencia de mayor número de picos, compuestos extraídos, en relación a las extracciones de 5 y 60 minutos. Este hecho puede ser explicado por dos factores: primero, por el mayor tiempo de extracción a que fueron sometidas las muestras de ácaros propiciando la extracción de mayor número de compuestos, lo que se verifica por la mayor corriente de iones de 4×10^6 en 60 min contra 1×10^6 en 5 min (Figura 2C y Figura 2B), y mayor corriente de iones de 8×10^6 en 60 min contra $3,5 \times 10^6$ en 5 min (Figura 3D y Figura 3C) los cuales son proporcionales a la concentración de los compuestos. Segundo, por el rompimiento de la cutícula de los ácaros exponiendo su contenido y órganos internos a la extracción por el solvente, lo que puede ser verificado por la presencia de gran número de picos de diversos compuestos de menor peso molecular presentes en *T. urticae* de 4 a 7,5 min (Figura 1C y Figura 3A y B). Se optó por el análisis cuticular con extracción por el tiempo de 5 min por estar de acuerdo con las metodologías más utilizadas en la literatura donde realizan extracciones de 2 a 10 min (JOHNSON *et al.*, 2001; HIROAKA *et al.*, 2003; LU *et al.*, 2004).

Varios picos no fueron identificados debido a la baja concentración de estos en los extractos, por no haber sido reportados en la literatura para comparación de los tiempos de retención con el índice de Kovats, por la inexistencia de datos de estos compuestos en la biblioteca del CG/MS y porque no fue posible la determinación estructural, patrón de fragmentación de los compuestos por medio de análisis de los espectros de masas ya que tales patrones pueden ser resultantes de varios compuestos. Por tanto, sería necesario el aislamiento y análisis de los compuestos por otras metodologías. Entretanto, la polaridad de tales compuestos, la cual es uno de los factores que influyen la retención y penetración de los compuestos por la cutícula, fue analizada para todos los compuestos por medio del área total de los compuestos polares (ATCP) y el área total de los compuestos apolares (ATCA) (Anexo 2).

El hecho de que los compuestos extraídos por el solvente estén más concentrados en *T. urticae*, 2,07 a 3,67, siendo en promedio 2,60, puede facilitar o dificultar la retención y penetración de moléculas acaricidas, lo que puede ocasionar mayor o menor mortalidad de las especies de ácaros (BIDOCHKA & KHACHATOURIANS, 1997).

Debido a la hidrofobicidad de la epicutícula conferida por lípidos, especialmente hidrocarburos y ceras, la cutícula tiene mayor afinidad por compuestos apolares, los cuales tienden a tener mayor penetración vía cutícula, que los compuestos polares. Entretanto, la predominancia de compuestos polares en la cutícula, como es el caso de los ácaros *T. urticae* y *T. evansi*, hace que la afinidad por compuestos polares sea mayor y pueda tener la retención y penetración favorecida en detrimento de los compuestos apolares.

Los lípidos cuticulares juegan un papel crítico en la supervivencia de los insectos en los diferentes ambientes terrestres (BLOMQUIST *et al.*, 1987). Entre los lípidos cuticulares los hidrocarburos han recibido bastante atención debido a varias características (ALARIE *et al.*, 1998). En primer lugar, estos compuestos son los más abundantes en la superficie de muchos insectos, son fáciles de extraer y existen técnicas estandarizadas para estudiarlos. En segundo lugar, los hidrocarburos también pueden tener varias funciones en el comportamiento de los insectos. Por último, los hidrocarburos cuticulares pueden ser usados como caracteres taxonómicos o en estudio de sistemática (HOWARD, 1993; BLOMQUIST & BAGNÈRES, 2010).

En relación al control químico, esta es una importante característica, pues, aún es por medio de acaricidas la principal forma de control de ácaros fitófagos, representado por la aplicación de acaricidas sintéticos. Hasta el momento no se ha podido demostrar una correlación entre la penetración de los insecticidas y los hidrocarburos cuticulares. Con los estudios de penetración utilizando radioisótopos se ha podido determinar el tiempo de penetración (JUÁREZ, 1994). Sin embargo, faltan estudios que comprueben el efecto de los hidrocarburos cuticulares con respecto a la susceptibilidad a un determinado insecticida (ANYANWU *et al.*, 1997).

Los resultados obtenidos en esta investigación, al encontrarse diferencias en la composición química en las cutículas de los ácaros *T. urticae* y *T. evansi*, posiblemente pueden ser la respuesta de la selectividad que presentan estas dos especies de ácaros a los productos utilizados para su control. Los compuestos ácido palmítico, ácido linoleico, ácido metil linoleato y ácido oleico o esteárico presentaron mayor concentración en la cutícula de *T. urticae* que en la cutícula de *T. evansi*.

BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, R.P., 1995.- *Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectroscopy*. Illinois, Allured Publishing Corporation. 468p.
- ALARIE, Y. JOLY, H. & DENNIE, D., 1998.- Cuticular hydrocarbon analysis of the aquatic beetle *Agabus anthracinus* Mannerheim (Coleoptera: Dysticidae). *The Canadian Entomologist*, 130: 615-629.
- ANYANWU, G.I.; DAVIES, D.H. MOLYNEUX, D.H. & PHILLIPS, A., 1997.- Variation in cuticular hydrocarbons among strains of *Anopheles* (*Cellia*) *stephensi* Liston possibly related to prior insecticide exposure. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 91 (6): 649-660.

- ANYANWU, G.I. MOLYNEUX, D.H. & PHILLIPS, A., 2000.- Variation in cuticular hydrocarbons among strains of the *Anopheles gambiae* sensu stricto by analysis of cuticular hydrocarbons using gas liquid chromatography of larvae. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95 (3): 295-300.
- BIDOCHKA, M.J. & KHACHATOURIANS, G.G., 1997.- Basic proteases of entomopathogenic fungi differ in their adsorption properties to insect cuticle. *Journal of Invertebrate Pathology*, 64: 26-32.
- BLOMQUIST, G.J.; NELSON, D.R. & RENOBALLES, M., 1987.- Chemistry, biochemistry, and physiology of insect cuticular lipids. *Archives Insect Biochemistry and Physiology*, 6: 227-265.
- BLOMQUIST, G.J. & BAGNÈRES, A.G., 2010.- Introduction: history and overview of insect hydrocarbons *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology*. Cambridge University Press, Cambridge Press. 506p.
- CHIAVEGATO, L.G. & MISCHAM, M.M., 1981.- Efeito do ácaro *Tetranychus urticae* (KOCH, 1836) BOUDREUX; DOSSE, 1963 (Acari: Tetranychidae) na produção no morangoeiro (*Fragaria* spp.). *Científica*, Campinas, 9: 257-266.
- DOI, M. NEMOTO, T. NAKANISHI, H. KUWAHARA, Y. & OGUMA, Y., 1997.- Behavioral response of males to major sex pheromone component (Z,Z)-5,25-hentriacontadiene, of *Drosophila ananassa* females. *Journal of Chemical Ecology*, 23: 2067-2078.
- FILGUEIRA, F.A.R., 2000.- *Novo manual de olericultura - agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. UFV, Viçosa. 402p.
- FRAGOSO, D.B. GUEDES, R.N.C. PÍCANÇO, M.C. & ZAMBOLIM, L., 2002.- Insecticide use and organophosphate resistance in the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). *Bulletin of Entomological Research*, 92: 203-212.
- GUANILO, A.D., 2007.- Busca de *Tetranychus evansi* e seus inimigos naturais no Peru e no norte da Argentina: Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba. 186p.
- GULLAN, P.J. & CRANSTON, P.S., 1998.- *The insects: an outline of entomology*. Chapman & Hall, London. 491p.
- HELLE, W. & SABELIS, M.W., 1985.- *Spider mites: their biology, natural enemies and control*. V. 1A. Elsevier, Amsterdam. 405p.
- HIROAKA, H. MORI, N. OKABE, K. NISHIDA, R. & KUWAHARA, Y., 2003.- Chemical ecology of astigmatid mites LXIX. Neryl formate [3,7-dimethyl-(Z)-2,6-octadienyl formate] as the alarm pheromone of an acarid mite, *Histiogaster rotundus* Woodring (Acari: Acaridae). *Applied Entomology and Zoology*, 38 (3): 379-385.
- HORNE, G.L. & PRIESTMAN, A., 2002.- The chemical characterization of the epicuticular hydrocarbons of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Bulletin of Entomological Research*, 92: 287-294.
- HOWARD, R.W., 1993.- Cuticular hydrocarbons and chemical communication: 179-26 (en) STANLEY-SAMUELSON, D.W., NELSON, D.R. (eds.) *Insect lipids: chemistry, biochemistry and biology*. University of Nebraska Press, Lincoln.
- JOHNSON, C.A. VANDER MEER, R.K. & LAVINE, B., 2001.- Changes in the cuticular hydrocarbon profile of the slave-maker ant queen, *Polyergus breviceps* Emery, after killing a *Formica* host queen (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Chemical Ecology*, 27 (9): 1787-1804.
- JUÁREZ, P., 1994.- Inhibition of cuticular lipid synthesis and its effect on insect survival. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 25 (3): 177-191.
- KOVATS, E., 1965.- Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography*, 1: 229-247.
- LAPOINTE, S.L. HUNTER, W.B. & ALESSANDRO, R.T., 2004.- Cuticular hydrocarbons on elytra of the Diaprepes root weevil *Diaprepes abbreviatus* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Agricultural and Forest Entomology*, 6: 251-257.
- LIEPERT, C. & DETTNER, K., 1996.- Role of cuticular hydrocarbons of aphid parasitoids in their relationship to aphid-attending ants. *Journal of Chemical Ecology*, 22: 695-706.
- LU, X. ZHAO, M. KONG, H. CAI, J. WU, J. WU, M. HUA, R. LIU, J. & XU, G., 2004.- Characterization of complex hydrocarbons in cigarette smoke condensate by gas chromatography-mass spectrometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 43: 265-273.
- MAHAMAT, H. & MIN, J.X., 2000.- Cuticular hydrocarbon composition and taxonomic differentiation of phlebotomine sandfly species (Diptera: Psychodidae) in Kenya. *Journal of Medical Entomology*, 35: 778-781.
- MALUF, W.R. CAMPOS, G.A. & CARDOSO, M.D., 2001.- Relationship between trichome types and spider mite (*Tetranychus evansi*) repellence in tomatoes with respect to foliar zingiberene contents. *Euphytica*, 121: 73-80.
- MORAES, G.J. & FLECHTMANN, C.H.W., 2008.- *Manual de Acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil*. Holos, Ribeirão Preto. 288p.
- MURATORI, F. RALEC, A.L. LOGNAY, G. & HANCE, T., 2006.- Epicuticular factors involved in host recognition for the aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphii*. *Journal Chemical Ecology*, 32 (3): 579-593.
- NATION, J.L., 2002.- *Insect physiology and biochemistry*. CRC Press, London, New York. 485p.
- NELSON, D.R. CARLSON, D.A. & FATLAND, C.L., 1988.- Cuticular hydrocarbons of tsetse flies II. *Glossina fuscipes*, *G. palpalis*, *G. p. gambienses*, *G. tachinoides*, and *G. brevipalpis*. *Journal of Chemical Ecology*, 14 (3): 963-987.

- NELSON, D.R. & CHARLET, L.D., 2003.- Cuticular hydrocarbons of the sunflower beetle, *Zygogramma exclamationis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 135: 273-284.
- NELSON, D.R. TISSOT, M. NELSON, L.J. FATLAND, C.L. & GORDON, D.M., 2001.- Novel wax esters and hydrocarbons in the cuticular surface lipids of the red harvester ant, *Pogonomyrmex barbatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 128: 575-595.
- PAGE, M. NELSON, L.J. HAVERTY, M.I. & BLOMQUIST, G.J., 1990.- Cuticular hydrocarbon as chemotaxonomic characters for bark beetles: *Dendroctonus ponderosae*, *D. jeffreyi*, *D. brevicornis*, and *D. frontalis* (Coleoptera: Scolityidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 83: 892-901.
- PHILLIPS, A. SABATINI, A. MILLIGAN, P.J.M. BOCCOLINI, D. BROONFIELD, G. & MOLYNEUX, D.H., 1990.- The *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae): comparison of the cuticular hydrocarbon profiles determined in adults of five palaeartic species. *Bulletin of Entomological Research*, 80: 459-464.
- PICANÇO, M.C. SOTO, A. BACCI, L. FIDELIS, E.G. SILVA, G.A. DE SENA, M.E., 2007.- Controle biológico das principais pragas de hortaliças no Brasil: 505-537 (en) ZAMBOLIM, L. (ed.) *Manejo integrado de doenças e pragas hortaliças*. UFV, Viçosa .
- SARMIENTO, R.A., 2003.- Resposta comportamental de artrópodes em teia alimentar de tomateiro: Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 161p.
- SATO, M.E. PASSEROTTI, C.M. TAKEMATSU, A.P. SOUZA FILHO, M.F. POTENZA, M.R. & SIVIERI, A.P., 2000.- Resistência de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) a acaricidas, em pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch), em Paranapanema e Jundiá-SP. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 67: 117-123.
- THORNE, B.L. HAVERTY, M.I. & COLLINS, M.S., 1994.- Taxonomy and biogeography of *Nasutitermes acajutlae* and *N. nigriceps* (Isoptera: Termitidae) in the Caribbean and Central America. *Annals of the Entomological Society of America*, 87: 762-770.
- YE, G. LI, K. ZHU, J. ZHU, G. & HU, C., 2007.- Cuticular hydrocarbon composition in pupal exuviae for taxonomic differentiation of six necrophagous flies. *Journal of Medical Entomology*, 44 (3): 450-45.
- YOUNG, H.P.; LARABEE, J.K.; GIBBS, A.G. & SCHAL, C., 2000.- Relationship between tissue-specific hydrocarbon profiles and lipid melting temperatures in the cockroach *Blattella germanica*. *Journal of Chemical Ecology*, 26: 1245-1263.

Anexo 1. Picos observados en los análisis cromatográficos, identificación, tiempo de retención (TR) (s) e índice de Kovats (IK) calculado para los compuestos.

| Pico | Compuesto | TR | IK Calc. |
|------|-----------|-------------------------|----------|
| 1 | C12 | 4,102 | --- |
| 2 | | 4,205 | 1213 |
| 3 | | 4,502 | 1252 |
| 4 | | 4,558 | 1259 |
| 5 | | 4,592 | 1263 |
| 6 | | 4,660 | 1271 |
| 7 | | 4,740 | 1281 |
| 8 | | 4,842 | 1292 |
| 9 | C13 | 4,892 | 1298 |
| 10 | | 4,983 | 1309 |
| 11 | | 5,046 | 1316 |
| 12 | | 5,100 | 1323 |
| 13 | | 5,142 | 1328 |
| 14 | | 5,325 | 1348 |
| 15 | | 5,376 | 1354 |
| 16 | | 5,400 | 1357 |
| 17 | | 2-metil-tridecano (90%) | 5,448 |



| Pico | Compuesto | TR | IK Calc. |
|------|--|--------|----------|
| 18 | | 5,522 | 1370 |
| 19 | 2,6,11-trimetil-dodecano (92) | 5,576 | 1375 |
| 20 | | 5,657 | 1384 |
| 21 | | 5,712 | 1389 |
| 22 | C14 | 5,805 | 1398 |
| 23 | | 5,833 | 1401 |
| 24 | | 5,900 | 1408 |
| 25 | | 5,950 | 1414 |
| 26 | | 6,005 | 1419 |
| 27 | | 6,171 | 1436 |
| 28 | | 6,270 | 1446 |
| 29 | | 6,325 | 1451 |
| 30 | | 6,376 | 1456 |
| 31 | | 6,418 | 1460 |
| 32 | | 6,509 | 1468 |
| 33 | | 6,558 | 1473 |
| 34 | | 6,621 | 1479 |
| 35 | | 6,689 | 1485 |
| 36 | C15 | 6,823 | 1496 |
| 37 | | 6,883 | 1502 |
| 38 | | 7,512 | 1560 |
| 39 | C16 | 7,936 | 1596 |
| 40 | Contaminante/Ftalato | 8,075 | 1608 |
| 41 | | 8,504 | 1646 |
| 42 | C17 | 9,123 | 1696 |
| 43 | | 9,191 | 1701 |
| 44 | | 9,443 | 1723 |
| 45 | | 9,713 | 1745 |
| 46 | Ácido tetradecanoico o ácido myristico (91) | 9,875 | 1758 |
| 47 | C18 | 10,336 | 1796 |
| 48 | | 10,464 | 1804 |
| 49 | Neofitadieno (92) | 10,872 | 1839 |
| 50 | | 11,178 | 1864 |
| 51 | Contaminante/Ftalato | 11,404 | 1881 |
| 52 | C19 | 11,577 | 1895 |
| 53 | Benzeno, (1-metil-dodecil) - (CAS) 2-feniltridecano, 2-fenil- tidecano (95) | 11,849 | 1918 |
| 54 | | 12,217 | 1948 |
| 55 | Ácido hexadecanoico o ácido palmítico (95) | 12,383 | 1962 |

| Pico | Compuesto | TR | IK Calc. |
|------|---|--------|----------|
| 56 | C20 | 12,791 | 1995 |
| 57 | | 13,353 | 2043 |
| 58 | C21 | 13,975 | 2094 |
| 59 | Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z) - (CAS) ácido linoleico (92) | 14,542 | 2144 |
| 60 | Ácido 9,12,15-octadecatrienoico metil ester, (Z,Z,Z) - (CAS) Metil linoleato - ácido linoleico metil ester (94) | 14,638 | 2152 |
| 61 | Ácido octadecanoico (CAS) Ácido esteárico (95) | 14,822 | 2168 |
| 62 | Ácido cis-8,11,14-eicosatrienoico (86) | 14,942 | 2178 |
| 63 | C22 | 15,129 | 2194 |
| 64 | | 15,423 | 2221 |
| 65 | C23 | 16,235 | 2293 |
| 66 | | 16,890 | 2355 |
| 67 | Ácido eicosanóico (CAS) Ácido aradonico ácido aráquico (93) | 17,057 | 2370 |
| 68 | C24 | 17,311 | 2393 |
| 69 | | 17,872 | 2448 |
| 70 | | 18,035 | 2464 |
| 71 | | 18,217 | 2481 |
| 72 | C25 | 18,341 | 2498 |
| 73 | | 18,643 | 2523 |
| 74 | Contaminante/Ftalato | 19,017 | 2561 |
| 75 | C26 | 19,343 | 2594 |
| 76 | | 20,302 | 2677 |
| 77 | | 20,349 | 2681 |
| 78 | C28 | 21,233 | 2801 |
| 79 | | 21,613 | 2841 |
| 80 | 2,6,10,15,19,23-hexametil - 2,6,10,14,18,22,-tetracosahexano (91) | 21,682 | 2850 |
| 81 | C29 | 22,131 | 2901 |
| 82 | | 22,669 | 2965 |
| 83 | C30 | 22,999 | 3003 |
| 84 | | 23,761 | 3094 |
| 85 | C31 | 23,838 | 3103 |
| 86 | | 23,906 | 3111 |
| 87 | | 24,197 | 3145 |
| 88 | Vitamina E (75) | 24,511 | 3181 |
| 89 | C32 | 24,670 | 3201 |
| 90 | | 24,972 | 3233 |
| 91 | C33 | 25,575 | 3299 |



| Pico | Compuesto | TR | IK Calc. |
|------|-----------------|--------|----------|
| 92 | C34 | 26,605 | 3405 |
| 93 | | 27,184 | 3456 |
| 94 | | --- | --- |
| 81 | C29 | 22,131 | 2901 |
| 82 | | 22,669 | 2965 |
| 83 | C30 | 22,999 | 3003 |
| 84 | | 23,761 | 3094 |
| 85 | C31 | 23,838 | 3103 |
| 86 | | 23,906 | 3111 |
| 87 | | 24,197 | 3145 |
| 88 | Vitamina E (75) | 24,511 | 3181 |
| 89 | C32 | 24,670 | 3201 |
| 90 | | 24,972 | 3233 |
| 91 | C33 | 25,575 | 3299 |
| 92 | C34 | 26,605 | 3405 |
| 93 | | 27,184 | 3456 |
| 94 | | --- | --- |

Anexo 2. Picos de los compuestos, área relativa (%) de los compuestos presentes en los extractos cuticulares hexánicos de *T. urticae* (T.u) y de *T. evansi* (T.e) producidos con tiempo de extracción de 5, 60 min y 24 horas y polaridad observada de los compuestos para cada pico.

| Pico | T.e | T.e | T.e | T.u | T.u | T.u | Polaridad |
|-------------------|-------|--------|------|-------|--------|------|-----------|
| | 5 min | 60 min | 24 h | 5 min | 60 min | 24 h | |
| Área relativa (%) | | | | | | | |
| 1 | | | | | | 1,38 | Apolar |
| 2 | | | | | | 0,78 | Apolar |
| 3 | | | | | | 0,83 | Polar |
| 4 | | | | | | 0,20 | Apolar |
| 5 | | | | | | 0,95 | Apolar |
| 6 | | | | | | 2,02 | Apolar |
| 7 | | | 0,14 | | | 0,46 | Apolar |
| 8 | | | | | | 0,19 | Apolar |
| 9 | | | 0,18 | | | 5,73 | Apolar |
| 10 | | | | | | 1,25 | Polar |
| 11 | | | | | | 0,87 | Apolar |

| Pico | T.e | T.e | T.e | T.u | T.u | T.u | Polaridad |
|-------------------|-------|--------|------|-------|--------|------|--------------|
| | 5 min | 60 min | 24 h | 5 min | 60 min | 24 h | |
| Área relativa (%) | | | | | | | |
| 13 | | | | | | 0,85 | Apolar |
| 14 | | | | | | 1,73 | Apolar |
| 15 | | | | | | 2,41 | Apolar |
| 16 | | | | | | 0,66 | Apolar |
| 17 | | | | | | 1,65 | Apolar |
| 18 | | | | | | 1,37 | Apolar |
| 19 | | | | | | 2,98 | Apolar |
| 20 | | | | | | 0,94 | Polar |
| 21 | | | 0,18 | | | 0,50 | Polar |
| 22 | | | 0,21 | | | 8,89 | Apolar |
| 23 | | | | | | 0,64 | Polar |
| 24 | | | | | | 0,78 | Apolar |
| 25 | | | | | | 0,67 | Polar |
| 26 | | | | | | 1,03 | Polar |
| 27 | | | | | | 1,44 | Apolar |
| 28 | | | | | | 1,54 | Apolar |
| 29 | | | | | | 1,19 | Apolar |
| 30 | | | | | | 2,09 | Apolar |
| 31 | | | | | | 3,48 | Apolar |
| 32 | | | | | | 1,12 | Apolar |
| 33 | | | | | | 0,63 | Apolar |
| 34 | | | | | | 0,53 | Polar |
| 35 | | | | | | 0,26 | Polar |
| 36 | | | 0,13 | | | 5,20 | Apolar |
| 37 | | | | | | 0,83 | --- |
| 38 | | | | | | 0,70 | Apolar |
| 39 | | | 0,09 | | | 2,08 | Apolar |
| 40 | | | 0,30 | | | | Contaminante |
| 41 | | | | | | 0,57 | Apolar |
| 42 | | | 0,14 | | | 0,89 | Apolar |
| 43 | | | 0,09 | | | 0,83 | Apolar |
| 44 | 1,29 | Trazo | | Trazo | Trazo | | Polar |
| 45 | | | 0,36 | | | | Apolar |
| 46 | | 0,85 | 0,39 | 0,80 | 0,35 | | Polar |
| 47 | | | 0,32 | | | 0,54 | Apolar |



| Pico | T.e | T.e | T.e | T.u | T.u | T.u | Polaridad |
|------|--------------------------|--------|-------|-------|--------|------|--------------|
| | 5 min | 60 min | 24 h | 5 min | 60 min | 24 h | |
| | Área relativa (%) | | | | | | |
| 49 | 1,84 | 1,71 | 2,70 | 1,12 | 0,59 | 2,19 | Apolar |
| 50 | Trazo | Trazo | 0,59 | Trazo | 0,13 | 0,38 | Apolar |
| 51 | 1,73 | 0,73 | 1,68 | 1,17 | 0,33 | 1,01 | Contaminante |
| 52 | | | 0,56 | | | 0,41 | Apolar |
| 53 | | | | | | 0,75 | Apolar |
| 54 | | 2,80 | | | 0,12 | | Polar |
| 55 | 7,73 | 4,20 | 3,22 | 6,24 | 2,17 | 1,16 | Polar |
| 56 | Trazo | 1,08 | 0,64 | Trazo | Trazo | 0,38 | Apolar |
| 57 | | | 0,95 | | | | Polar |
| 58 | | 0,45 | 0,68 | 0,49 | 0,15 | 0,37 | Apolar |
| 59 | 8,23 | 10,24 | | 2,90 | 29,29 | | Polar |
| 60 | 25,64 | 56,56 | 25,89 | 58,02 | 50,67 | 6,79 | Polar |
| 61 | 14,77 | 14,45 | 14,51 | 19,03 | 14,38 | 3,65 | Polar |
| 62 | 2,80 | 4,32 | | 1,23 | 0,77 | | Polar |
| 63 | | | 0,88 | | | 0,36 | Apolar |
| 64 | | | 0,33 | | | | Polar |
| 65 | | | 0,97 | | | 0,30 | Apolar |
| 66 | | | | | 0,25 | | Polar |
| 67 | 9,76 | | | | 0,22 | | Polar |
| 68 | | | 1,14 | | | 0,36 | Apolar |
| 69 | | | 1,74 | | | 0,59 | Polar |
| 70 | | | 1,97 | | | 0,69 | Polar |
| 71 | | | 0,33 | | | 0,37 | Polar |
| 72 | | | 1,75 | 0,80 | | 0,91 | Apolar |
| 73 | | | 1,68 | | | 0,42 | Polar |
| 74 | 1,91 | 0,54 | 8,30 | 2,28 | | 1,04 | Contaminante |
| 75 | | | 1,65 | | | 0,81 | Apolar |
| 76 | | | 1,52 | | | 0,43 | Apolar |
| 77 | | | | 1,00 | | | Apolar |
| 78 | | | 1,94 | 0,49 | | 0,68 | Apolar |
| 79 | | | 1,27 | | | | Polar |
| 80 | 4,70 | 0,54 | | 2,74 | 0,40 | | --- |
| 81 | | | 1,64 | 1,05 | | 0,92 | Apolar |
| 82 | | | 0,87 | | | 0,45 | Polar |
| 83 | | | 1,29 | | | 0,46 | Apolar |
| 84 | | | 2,50 | | | 0,98 | Polar |

| Pico | T.e | T.e | T.e | T.u | T.u | T.u | Polaridad |
|-------|-------------------|--------|--------|-------|--------|-------|-----------|
| | 5 min | 60 min | 24 h | 5 min | 60 min | 24 h | |
| | Área relativa (%) | | | | | | |
| 86 | | | 2,22 | | | 0,93 | Polar |
| 87 | | | 1,67 | | | 0,57 | --- |
| 88 | 2,13 | 1,41 | 1,43 | | 0,28 | | Polar |
| 89 | | | 2,31 | | | 0,54 | Apolar |
| 90 | | | 1,49 | | | 0,61 | Polar |
| 91 | | | 1,26 | | | 0,46 | Apolar |
| 92 | | | 2,09 | | | 0,70 | Apolar |
| 93 | | | | | | 2,13 | Polar |
| 94 | 15,00 | | | | | | Polar |
| ATCP | 87,35 | 94,83 | 60,99 | 88,22 | 97,63 | 25,42 | |
| ATCA | 4,31 | 3,24 | 27,05 | 5,59 | 0,97 | 70,31 | |
| ATCC | 3,64 | 1,27 | 10,28 | 3,45 | 0,33 | 2,05 | |
| ATCI | 4,70 | 0,54 | 1,67 | 2,74 | 0,40 | 1,40 | |
| TOTAL | 100 | 99,88 | 100,00 | 100 | 100,00 | 99,18 | |
| PMA | 56,37 | 85,45 | 43,62 | 86,19 | 96,51 | 11,30 | |

OBS: PMA (%)= Picos más abundantes (suma de los picos 55+59+60+61) a total de los compuestos contaminantes y ATCI= Área total de los compuestos cuya naturaleza de la polaridad no fue posible determinar. El trazado '---' indica los compuestos cuya naturaleza, polar o apolar, no fue posible ser determinada.

Anexo 3. Cantidad de los compuestos por unidad de peso vivo de los ácaros (mg/g) y su polaridad entre *T. urticae* (T.u) y de *T. evansi* (T.e) producidos con tiempo de extracción de 5, 60 min y del total presente en los ácaros considerándose los dos tiempos.

| Pico | T.e 5 min | T.e 60 min | T.u 5 min | T.u 60 min | Tu5+Tu60/Te5+Te60 |
|------|--------------|---------------|--------------|---------------|-------------------|
| 44 | 0,06 | Trazo | Trazo | Trazo | |
| 46 | | 0,09 | 0,15 | 0,08 | 2,51 |
| 49 | 0,09 | 0,18 | 0,21 | 0,13 | 1,23 |
| 50 | Trazo | Trazo | Trazo | 0,03 | |
| 51 | 0,09 | 0,08 | 0,21 | 0,07 | --- |
| 54 | | 0,29 | | 0,03 | 0,09 |
| 55 | 0,39 | 0,44 | 1,15 | 0,47 | 1,96 |
| 56 | Trazo | 0,11 | Trazo | Trazo | |
| 58 | | 0,05 | 0,09 | 0,03 | 2,61 |



| Pico | T.e 5 min | T.e 60 min | T.u 5 min | T.u 60 min | Tu5+Tu60/Te5+Te60 |
|---------------------------|--------------|---------------|--------------|---------------|-------------------|
| 59 | 0,41 | 1,07 | 0,53 | 6,33 | 4,64 |
| 60 | 1,28 | 5,90 | 10,66 | 10,95 | 3,01 |
| 61 | 0,74 | 1,51 | 3,50 | 3,11 | 2,94 |
| 62 | 0,14 | 0,45 | 0,23 | 0,17 | 0,66 |
| 66 | | | | 0,05 | |
| 67 | 0,49 | | | 0,05 | 0,10 |
| 72 | | | 0,15 | | |
| 74 | 0,10 | 0,06 | 0,42 | 0,00 | --- |
| 77 | | | 0,18 | | |
| 78 | | | 0,09 | | |
| 80 | 0,24 | 0,06 | 0,50 | 0,09 | 2,02 |
| 81 | | | 0,19 | | |
| 85 | 0,12 | | 0,12 | | 0,95 |
| 88 | 0,11 | 0,15 | | 0,06 | 0,24 |
| 94 | 0,75 | | | | |
| TCP | 4,37 | 9,89 | 16,21 | 21,29 | |
| PMA/ TCP*100 | 64,07 | 90,09 | 97,72 | 97,98 | |
| TOTAL | 5,01 | 10,42 | 18,37 | 21,64 | |
| PMA/ TOTAL*100 | 55,89 | 85,51 | 86,23 | 96,40 | |
| PMA | 2,8 | 8,91 | 15,84 | 20,86 | |

OBS: PMA (%) = Picos más abundantes (suma de los picos 55+59+60+61), TCP = Ttal de los compuestos polares