

POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Citrus*, *Mangifera* E
Piper VISANDO SUA UTILIZAÇÃO NO MANEJO DA MOSCA-BRANCA
E DO ÁCARO RAJADO

por

NICOLLE DE CARVALHO RIBEIRO

(Sob Orientação do Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

RESUMO

A mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) são consideradas cosmopolitas e responsáveis por causar grandes prejuízos em diversas culturas de importância econômica no pólo agrícola no município de Petrolina-Pernambuco, Brasil. O Brasil é o maior consumidor do mundo em pesticidas sintéticos. Dessa forma, visando minimizar o alto impacto desses produtos, este trabalho de tese descreve o estudo químico de óleos essenciais e a avaliação do potencial sobre mosca-branca e ácaro rajado de óleos essenciais de espécies de *Citrus* e de *Mangifera indica*, além de *Piper marginatum* e de seus constituintes. A susceptibilidade por fumigação da mosca-branca foi maior para os óleos de limão taiti e siciliano e a toxicidade do óleo de limão taiti foi no mesmo nível do controle positivo, enquanto que o óleo do caule e inflorescência de *P. marginatum* foi mais tóxico ao ácaro rajado e mais susceptível aos óleos do que o seu predador, *Neoseiulus californicus*. Os efeitos residuais dos óleos testados atuaram na preferência alimentar e de oviposição do ácaro. Os melhores resultados foram observados para os óleos de *Piper*, limão siciliano, tangerina murcot e cravo. Por outro lado, os testes com o óleo de manga rosa, revelaram que esse óleo estimulou a oviposição. Testes com terpenóides e fenilpropanóides puros revelaram que a propriedade biológica observada para os óleos nem

sempre é atribuída ao seu componente principal. Esses testes também revelaram que estereoisômeros de configurações (R)/(S) e (Z)/(E) apresentam propriedades biológicas diferentes, quando expostos ao ácaro rajado. Os resultados desse trabalho contribuíram para o conhecimento químico e biológico de plantas aromáticas nativas e/ou cultivadas no Nordeste. No entanto, novos estudos devem ser direcionados com relação ao custo-benefício dos óleos mais promissores, *Piper*, limão taiti e siciliano para o manejo do ácaro rajado e da mosca-branca no pólo agrícola em Petrolina-PE.

PALAVRAS-CHAVE: Óleos voláteis, fumigação, contato residual, repelência, deterrência de oviposição, *Bemisia tabaci*, *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus californicus*

POTENTIAL OF ESSENTIAL OILS OF SPECIES OF THE GENUS *Citrus*, *Mangifera* AND
Piper AIMING THEIR USE IN THE MANAGEMENT OF SILVERLEAF WHITEFLY
AND TWO SPOTTED SPIDER MITE

by

NICOLLE DE CARVALHO RIBEIRO

(Under the Direction of Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

ABSTRACT

The cosmopolitan silverleaf whitefly (*Bemisia tabaci*) and two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) are responsible for huge losses in a number of crops of economic importance in the agricultural region of the city of Petrolina, state of Pernambuco, Brazil. Brazil is the largest consumer of pesticides in the world. To help minimize the harmful impacts of these products, this thesis describes a chemical study of essential oils of *Citrus* species, the *Mangifera indica* and *Piper marginatum*, with an evaluation of the potential of these natural products regarding the control of the silverleaf whitefly and two-spotted spider mite. Susceptibility through fumigation of the silverleaf whitefly was greater when Key lime and lemon oils were used. Toxicity of the Key lime oil was similar to that of the positive control. The oils from the stems and flowers of *P. marginatum* were toxic to the two-spotted spider mite, which was more susceptible to the oils than its natural predator (*Neoseiulus californicus*). The residual effects of the oils acted on the feeding preference and oviposition of the mite. The best results were achieved with the oils from the marigold pepper, lemon, Murcott tangerine and mandarin orange. In contrast, the oil from the rosa mango stimulated oviposition. Tests with pure terpenoids and phenylpropanoids revealed that the biological properties of the oils cannot always be attributed to

their main components. These tests revealed that (R), (S), (Z) and (E) stereoisomers have different biological properties in the two-spotted spider mite. The present findings contribute to chemical and biological knowledge on native and cultivated aromatic plants in northeastern Brazil. Further studies should be carried out involving cost-benefit analysis of the most promising oils (marigold pepper, Key lime and lemon) for the management of the two-spotted spider mite and silverleaf whitefly in the agricultural region of Petrolina, Brazil.

KEY WORDS: Essential oils, fumigant, residual contact, repellency, oviposition deterrence, *Bemisia tabaci*, *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus californicus*

POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Citrus*, *Mangifera* E
Piper VISANDO SUA UTILIZAÇÃO NO MANEJO DA MOSCA-BRANCA
E DO ÁCARO RAJADO

por

NICOLLE DE CARVALHO RIBEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2014

POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Citrus*, *Mangifera* E
Piper VISANDO SUA UTILIZAÇÃO NO MANEJO DA MOSCA-BRANCA
E DO ÁCARO RAJADO

por

NICOLLE DE CARVALHO RIBEIRO

Comitê de Orientação:

Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Clécio Souza Ramos – UFRPE

POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Citrus*, *Mangifera* E
Piper VISANDO SUA UTILIZAÇÃO NO MANEJO DA MOSCA-BRANCA
E DO ÁCARO RAJADO

por

NICOLLE DE CARVALHO RIBEIRO

Orientador:

Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Examinadores:

Marilene Fancelli – Embrapa Mandioca e Fruticultura

Wendel José Teles Pontes – UFPE

César Auguste Badji – UFRPE - UAG

Reginaldo Barros – UFRPE

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, José Sampaio Ribeiro e Neuza de Carvalho Ribeiro, por me incentivarem e apoiar incessantemente toda minha caminhada acadêmica, me aconselhando com palavras de força e sempre torcendo com as conquistas; a minha irmã Pérola de Carvalho Ribeiro pelo amor incondicional e demonstração de orgulho e amadurecimento e a minha avó, Maria Ótilia Sampaio Ribeiro (in memoriam) exemplo de humildade e mulher guerreira, que carinhosamente com sábias palavras confortava meu coração.

AGRADECIMENTOS

À Deus, superior em tudo, real na minha vida e guia das pessoas que amo.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao CNPq pela concessão de bolsa.

À Minha família, alicerce fundamental que contribuiu enfaticamente nas escolhas que fiz, sempre estendendo as mãos nos momentos mais inesperados que passei.

À meus tios, tias, primos, primas, enfim todos que reconhecem o meu esforço sempre.

Ao orientador Cláudio Câmara, pela sutileza de mostrar como a ciência é rica. Agradeço também por confiar no meu trabalho, passando-me conhecimento, determinação, enfim, mostrando-me que com paciência e perseverança as dificuldades são superadas e o reconhecimento surge. Além de ser um grande amigo e confidente.

Aos professores do PPGEA, sabedores do conhecimento, em especial aos Professores José Vargas e Reginaldo Barros.

Aos meus amigos do PPGEA, Eduardo Carneiro, Felipes Colares, Mário Jorge, Cleiton Domingos, José Wagner, Maurício Silva, Agna Rita, Alberto Belo, Clara Elizabete, Paulo Roberto, Tadeu Martins, Alice Maria, Vando Rondelli, Carla Assis. Venho agradecer também a minha grande amiga Ana Paula, pelas palavras de apoio e pensamentos positivos.

À Liliane Marques, amiga-irmã, que me levou para os braços de sua família, me acolheu juntamente com Filipe Cavalcante, e em nenhum momento se hesitou em me ajudar, porque até em pensamento ela sabia o que eu estava precisando.

À Martin Duarte, pelas palavras acolhedoras, carinho e força de vontade em ajudar.

À todos do LPNBIO, inclusive os doutorandos Marcílio Moraes e Gesiane Lima pela força.

À Magali Amorim pelo apoio e momentos de descontração e Maria Cleoneide pela amizade, carinho, incentivo e disposição em todos os momentos.

À Luiz Coelho e Seu Luis pela ajuda em casa de vegetação e excelente companhia.

À Darcy, Romildo e Ariella pelos esclarecimentos e boa vontade em ajudar.

Aos verdadeiros amigos da UFRB em especial a Gisele Machado, Elma Souza, Hilo Souza, Cristiane Duarte, Lorena Mattos e Olívia Nepomuneco.

Sou grata ao CNPMF pelo estágio durante a graduação, benção de ser orientada por Dr^a. Marilene Fancelli e pela amizade de todos os funcionários de campo e laboratório.

Enfim, sou grata a todos que me acolheram com um simples sorriso.

SUMÁRIO

	Página
DEDICATÓRIA	vii
AGRADECIMENTOS	viii
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA	9
2 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ACARICIDA E INSETICIDA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS CASCAS DOS FRUTOS DE QUATRO ESPÉCIES DE <i>Citrus</i> E DO LÁTEX DOS FRUTOS DE DUAS VARIEDADES DE <i>Mangifera indica</i> E DE SEUS TERPENÓIDES MAJORITÁRIOS E MINORITÁRIOS	15
RESUMO	16
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
AGRADECIMENTOS	35
LITERATURA CITADA	35

3	TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAULE, INFLORESCÊNCIA E FOLHA DE <i>Piper marginatum</i> JACQ. E SEUS CONSTITUINTES MAJORITÁRIOS SOBRE <i>Tetranychus urticae</i> KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) E <i>Neoseiulus californicus</i> (MCGREGOR) (ACARI: PHYTOSEIIDAE)	56
	RESUMO	57
	ABSTRACT	58
	INTRODUÇÃO	59
	MATERIAL E MÉTODOS	61
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
	AGRADECIMENTOS	70
	LITERATURA CITADA.....	70
4	ATIVIDADE REPELENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Mangifera indica</i> , <i>Piper marginatum</i> E QUATRO ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Citrus</i> SOBRE <i>Tetranychus urticae</i> KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)	78
	RESUMO	79
	ABSTRACT	80
	INTRODUÇÃO	81
	MATERIAL E MÉTODOS	83
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
	AGRADECIMENTOS	93
	LITERATURA CITADA.....	93

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O Pólo agrícola em Pernambuco situado no semi-árido nordestino, no Submédio São Francisco, tem apresentado acelerado crescimento da produção agrícola irrigada desde seu início nos anos 70. Atualmente é considerado o maior e mais dinâmico pólo de fruticultura irrigada do Brasil. Entretanto, perdas agrícolas são comuns e dependendo da época do ano são bastante elevadas devido aos ataques de pragas, em decorrência das condições climáticas, que proporcionam rápido desenvolvimento de várias pragas, entre elas podemos citar mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) e o ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae).

No Brasil, a mosca-branca foi registrada inicialmente no algodoeiro no estado de São Paulo em 1968, e nos anos setenta, na cultura da soja e feijão no estado do Paraná (Costa *et al.* 1973). Porém, a caracterização do biótipo B para *B. tabaci* ocorreu em 1991 no estado de São Paulo. Anos seguintes à distribuição dessa praga, alcançou desde o Paraná na região sul até alguns estados do nordeste, como em Pernambuco onde ocorreu o primeiro registro de mosca-branca em culturas de tomate no Pólo agrícola de Petrolina em meados dos anos noventa (Haji *et al.* 2005). As principais culturas atacadas por essa praga incluem solanáceas (tomate, berinjela, pimentão, fumo, pimenta e jiló), cucurbitáceas (abobrinha, melancia, melão e chuchu), brássicas (brócolis e repolho), leguminosas (feijão, feijão vagem), algodão, mandioca, alface e quiabo, além de plantas ornamentais, daninhas e silvestres (Oliveira *et al.* 2001).

Para o ácaro rajado, sua ocorrência no Brasil tem sido registrada em diversos estados, de norte a sul. No município de Petrolina-PE, por exemplo, esse ácaro só foi encontrado pela

primeira vez em 1985, após o início da grande expansão dos cultivos irrigados dessa região (De Moraes 1985). A distribuição dessa praga continuou a se expandir, juntamente com o desenvolvimento do pólo agrícola de Petrolina. São diversas as culturas que sofrem significativamente com o ataque desse ácaro. Dentre elas, destacam-se as culturas de valor econômico como: tomate, pepino, melão, morango, milho, soja, maçã, uva e citros (Gerson & Weintraub 2012). Às vezes, até mesmo a cultura do milho pode ser danificada de forma significativa por esse ácaro, durante os períodos de baixa precipitação (Moraes & Flechatmann 2008).

As principais características da mosca-branca é ser um sugador de seiva do floema, ocorrendo em 506 espécies de plantas anuais e herbáceas, pertencentes a 74 famílias (Gelman & Gerling 2003). Em altas infestações a mosca-branca pode debilitar e até provocar a morte da planta (Lacerda & Carvalho 2008). Além disso, devido à excreção de uma substância açucarada nas folhas, ramos e frutos pode favorecer o desenvolvimento de fungos saprofíticos que interferem no processo fotossintético (Lacerda & Carvalho 2008). *B. tabaci* biótipo B é a espécie mais importante de mosca-branca relatada como vetor de vírus, principalmente, *geminivírus* (Costa 1976).

O adulto de mosca-branca mede de 1,0 a 2,0 mm, apresentando corpo amarelo e quatro asas membranosas recobertas por pulverulência branca (Lacerda & Carvalho 2008). Uma fêmea coloca de 100 a 300 ovos, podendo variar de acordo com os fatores bióticos e abióticos (Brown & Bird 1992). A fase de ninfa é composta por quatro estádios, 1º instar, 2º instar, 3º instar e 4º instar ou pupário (Salas & Mendonza 1995). O período de ovo a adulto sob temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pode variar de 20,5 dias em repolho até 26,6 dias em poinsettia (Villas Bôas *et al.* 1997). Assim, em decorrência do curto período do ciclo de vida a mosca-branca pode apresentar de 11 a 15

gerações por ano (Brown & Bird 1992). A longevidade de machos e fêmeas varia de 6 a 10 dias, dependendo da planta hospedeira e dos fatores ambientais (Oriani *et al.* 2008).

Outro artrópode que causa grandes danos econômicos aos agricultores é o ácaro rajado, que se alimenta de aproximadamente 1200 espécies de plantas, incluídas em mais de 140 famílias (Grbic *et al.* 2011). Nas plantas, o ácaro rajado tem preferência pelas folhas do terço inferior e mediano das plantas, porém em altas infestações pode ser encontrado nas folhas jovens (Moraes & Flechtmann 2008). O ácaro rajado para se alimentar perfura com seus estiletos a epiderme foliar e consome o conteúdo celular extravasado (Flechtmann 1985, Devine *et al.* 2001). Assim, no processo de alimentação ácaro rajado provoca injúrias no limbo foliar, que inicialmente se apresentam como manchas amareladas ou avermelhadas (Moraes & Flechtmann 2008). Em altas infestações, as folhas perdem a capacidade fotossintética, necrosam, secam e caem, refletindo em perdas na produção (Steinkraus *et al.* 2003).

As fêmeas deste ácaro têm o corpo relativamente oval, medindo cerca de 0,5 mm de comprimento, enquanto os machos medem 0,25 mm (Fadini *et al.* 2004). As fêmeas geralmente apresentam a coloração esverdeada ou avermelhada nas regiões quentes e frias, respectivamente. Além disso, o corpo das fêmeas é coberto de longas setas e duas manchas escuras, uma em cada lado do dorso (Fadini *et al.* 2004). Na colonização de uma planta, as fêmeas de *T. urticae* tecem fios de seda, que adquirem a forma de uma teia (Flechtmann 1985). Cada fêmea ovíparas mais de 100 ovos, preferencialmente sobre a superfície inferior da folha (Gerson & Weintraub 2012). Ácaro rajado durante o seu desenvolvimento passa pelas fases de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto (Flechtmann 1985). A duração do ciclo biológico é de 21 dias sob temperatura de 20 °C e de 7 dias sob temperatura de 30 °C, podendo completar uma geração entre 1 a 3 semanas, dependendo da planta hospedeira (Gerson & Weintraub 2012).

A proliferação da mosca-branca e do ácaro rajado está relacionada a diversos fatores, dentre eles destacam-se: a expansão do monocultivo de várias espécies de plantas hospedeiras, a rápida reprodução e dispersão destas pragas nos períodos quentes e secos frequentes nesta região, bem como pelo uso indiscriminado de agrotóxicos, contribuindo para o desenvolvimento de populações resistentes (Lima & Lara 2001).

O controle biológico do ácaro rajado é bastante utilizado em casa de vegetação associado ao controle com acaricidas sintéticos. Predadores da família Phytoseiidae são comumente utilizados em vários países, incluindo o Brasil no controle de ácaros fitófagos (Toldi *et al.* 2013). Entre esses predadores da família Phytoseiidae, destaca-se o ácaro generalista, *Neoseiulus californicus* (McGregor), predador de *T. urticae*. Devido a grande habilidade de sobreviver em baixa densidade populacional de presas e tolerante a altas temperaturas (Toldi *et al.* 2013) esse predador é bastante usado no controle do ácaro rajado em diversas regiões do Brasil (Ferla *et al.* 2007). No entanto, além da possibilidade de emprego do controle biológico visto para o ácaro rajado, a principal forma de controle das pragas mosca-branca e ácaro rajado é através do uso de pesticidas sintéticos (Erdogan *et al.* 2008).

Uso irracional de pesticidas sintéticos pode provocar inúmeros malefícios, como: problemas a saúde do homem, contaminação ambiental, interferência na sobrevivência de inimigos naturais (organismos não-alvo), bem como o desenvolvimento de populações resistentes aos inseticidas (Croft 1990). Populações da mosca-branca (Barro *et al.* 2011) e do ácaro rajado (Grbic *et al.* 2011) têm sido identificadas resistentes aos diversos ingredientes ativos comercializados em vários países, o que tem tornado seu controle cada vez mais difícil. O ácaro rajado e a mosca-branca foram considerados no ano de 2008 a primeira e a nona praga mais resistente aos ingredientes ativos, respectivamente (Whalon *et al.* 2008).

Uma das principais causas de desenvolvimento de populações dessas pragas resistentes a diversos ingredientes ativos contidos nos pesticidas sintéticos é sem dúvida, seu uso indiscriminado. De fato, em 2004, os gastos somaram mais de 2,3 bilhões e 26,9% desse total foi apenas com inseticidas (Borges *et al.* 2004). Em 2009, o Brasil tornou-se o maior consumidor do mundo em pesticidas agrícolas, seguido dos Estados Unidos (Merlino 2009).

Com o objetivo de diminuir o consumo exclusivo de pesticidas agrícolas, o manejo integrado de pragas surge como método que possibilita a utilização de pesticidas sintéticos em menor proporção. Esta abordagem tem por finalidade a busca por inovações tecnológicas e/ou estratégias para o controle de pragas que estão em harmonia com o meio ambiente. Como consequência desse novo paradigma, várias técnicas e metodologias de controle de pragas têm sido desenvolvidas, respeitando a filosofia de uma agricultura sustentável. É o caso do método de controle de pragas agrícolas com inseticidas botânicos. Inseticidas botânicos são produtos naturais obtidos de qualquer parte da planta e/ou seus derivados que possam atuar no controle de uma praga alvo. Entre esses produtos botânicos, destacam-se os óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas e que apresentam propriedades biológicas, inclusive contra artrópodes.

Óleo essencial é uma mistura complexa de compostos voláteis, constituído basicamente por terpenos e fenilpropanóides, os quais são reconhecidos por suas propriedades biológicas (Laborda *et al.* 2013). A aplicação dessa nova abordagem metodológica e técnicas na investigação da eficácia das propriedades biológicas dos óleos essenciais são iniciativas de grande relevância que devem ser encorajadas para que a biodiversidade de plantas aromáticas do bioma do Brasil possa ser explorada de forma racional com relação ao seu potencial pesticida.

A importância do uso de plantas aromáticas como fonte inseticida/acaricida, pode ser justificada pela coevolução entre as plantas e os insetos (Ehrlich *et al.* 1964). Ao longo de todo

processo evolutivo, o reino vegetal tem desenvolvido inúmeros mecanismos de defesa contra insetos herbívoros (Fernandes 1994).

O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, de um total estimado entre 350.000 a 550.000 (Simões *et al.* 2002). Essa grandeza de biodiversidade vegetal consiste em um importante acervo para o desenvolvimento sócio-econômico do país, como fonte de corantes, óleos vegetais, gorduras, fitoterápicos, antioxidantes e óleo essencial.

O interesse na investigação química e biológica de óleos essenciais para uso no controle de pragas agrícolas é suportada pelos trabalhos realizados por vários pesquisadores de diferentes regiões do mundo. Estes trabalhos têm reportado propriedades biológicas sobre artrópodes de importância médica (Norashiqin *et al.* 2009, Govindarajan 2010), de grãos armazenados (Coitinho *et al.* 2011, Kim & Lee 2014), e das pragas agrícolas objeto desse trabalho, ácaro rajado (Araújo-Junior *et al.* 2010, Attia *et al.* 2011, Han *et al.* 2011, Afify *et al.* 2012, Motazedian *et al.* 2012, Roh *et al.* 2013), e mosca-branca (Aslan *et al.* 2004, Kim *et al.* 2011, Baldin *et al.* 2013).

O desenvolvimento de pesticidas com base em óleo essencial tem sido estudado para utilizar na aplicação do manejo de outras pragas (Isman 2006). Devido alguns óleos essenciais e seus poucos componentes serem usados tradicionalmente na culinária, bem como pela indústria de alimentos, fragrância e recentemente na aromaterapia, a comercialização desses óleos têm facilitado o rápido desenvolvimento e comercialização de pesticidas a partir de óleos.

Além dessas vantagens outras merecem atenção, como por exemplo: a) Os preços são geralmente baixos devido à produção em escala para fornecimento de vários tipos de óleos às indústrias químicas, alimentos, perfumes e cosméticos; b) Apresentam vários modos de ação com diferentes sítios de ação no sistema nervoso dos artrópodes: em neuromodulador da octopamina e tiamina (Enan 2005a,b) e com GABA moduladores de canais de cloro (Priestley *et al.* 2003); c)

com raras exceções, os óleos essenciais e seus constituintes químicos podem ser tóxicos para mamíferos; d) Por serem voláteis, os óleos e seus constituintes não são persistentes no meio ambiente, com meia vida ao ar livre de 24h no solo e na água.

Apesar do grande número de estudos relacionados às propriedades biológicas dos óleos essenciais sobre pragas agrícolas, poucos são aqueles que focam na investigação da atividade dos constituintes puros com o intuito de correlacionar a propriedade observada para o óleo com seus constituintes químicos. Investigação mais detalhada de um óleo essencial das plantas aromáticas nativas e/ou exóticas, avaliando inclusive a atividade biológica dos constituintes puros, através de novas abordagens metodológicas para avaliação dos efeitos letais e subletais, em artrópodes de interesse agrícola, permitirá melhor entendimento das propriedades inerentes dos óleos, facilitando a preparação de uma formulação de um inseticida botânico, tendo o óleo essencial como princípio ativo.

Dessa forma, óleos essenciais de espécies pertencentes aos gêneros *Citrus*, *Mangifera* e *Piper*, nativas e/ou cultivadas na região Nordeste foram selecionadas para investigação do potencial inseticida sobre mosca-branca e acaricida sobre ácaro rajado.

De acordo com o estado da arte das propriedades biológicas dos óleos essenciais de espécies dos gêneros, *Citrus*, *Mangifera* e *Piper*, com exceção dos óleos das espécies de *Citrus*, *C. aurantifolia* (limão taiti) e *C. reticulata* (tangerina cravo), que foram avaliados contra o ácaro rajado, mas revelaram baixa toxicidade (Choi *et al.* 2004), nenhum estudo foi realizado avaliando o potencial sobre mosca-branca e ácaro rajado das espécies selecionadas desses gêneros nesse estudo. No entanto, a avaliação da atividade biológica de óleos essenciais dessas espécies dos gêneros sobre outros artrópodes foi encontrada, inclusive para óleos essenciais das espécies objeto de investigação desse trabalho, como por exemplo, *C. aurantifolia* (limão taiti) contra *Callosobruchus maculatus* (Rotimi & Ekperusi 2012), *C. limon* (limão siciliano) contra

Spodoptera frugiperda (Villafañe *et al.* 2011), *Piper marginatum* contra *Sitophilus zeamais* (Coitinho *et al.* 2011), *Tyrophagus putrescentia* (Assis *et al.* 2011) e *Aedes aegypti* (Autran *et al.* 2009); *Mangifera indica* contra *Anopheles gambiae* (Alwala *et al.* 2010).

Apesar do número expressivo de artigos publicados, nos últimos 20 anos (Isman 2006), sobre a propriedade biológica de óleos essenciais contra algum tipo de artrópode, a maioria tem direcionado sua investigação na avaliação apenas dos óleos, sem se preocupar com a propriedade individual de seus constituintes químicos. Além do mais, esses óleos essenciais são constituídos por compostos químicos, terpenóides e/ou fenilpropanóides que podem ser estereoisômeros quirais (R ou S) e caso esses dois estereoisômeros ocorram no óleo essencial, a proporção entre eles é diferente.

Esses estereoisômeros se caracterizam por apresentarem atividades biológicas distintas, na interação deles com um artrópode (Pérez-Fernández *et al.* 2010). Entre os pesticidas sintéticos, os piretóides, originados a partir da modificação da piretrina natural, são exemplos de pesticidas quirais, cuja toxicidade é altamente dependente de cada um de seus enantiômeros. Por exemplo, o enantiômero de configuração R da permetrina foi 25 vezes mais tóxico a *Musca domestica* do que o estereoisômero S (Pérez-Fernández *et al.* 2010).

Até o momento, nenhuma investigação sobre a avaliação da atividade inseticida/acaricida sobre mosca-branca e ácaro rajado com estereoisômeros quirais naturais tem sido conduzida. O principal componente do óleo essencial dos *Citrus* é o limoneno. Os dois enantiômeros desse monoterpene são os mais abundantes na natureza. Enquanto que o (R)-limoneno é o componente principal dos óleos das cascas dos limões e laranjas, o (S)-limoneno é principalmente encontrado em uma variedade de plantas e ervas como *Mentha* spp (Maróstica-Júnior & Pastore, 2007). Será que o ácaro rajado e a mosca-branca terão a mesma susceptibilidade para esses estereoisômeros e

o estereoisômero R terá atividade diferente do S? A atividade repelente do estereoisômero R será a mesma do estereoisômero S quando expostos ao ácaro rajado?

Para responder essas perguntas e discutir essa proposta de controle do ácaro rajado e mosca-branca dentro da filosofia do manejo integrado de pragas através do uso de óleos essenciais de plantas nativas e/ou cultivadas no Nordeste, foram testadas as seguintes hipóteses: a) Os óleos essenciais de espécies dos gêneros *Citrus* ou *Mangifera* ou *Piper* são fortes candidatos ao manejo da mosca-branca e do ácaro rajado; b) A propriedade biológica de óleos essenciais não está relacionada diretamente com a atividade individual de seus constituintes; c) Propriedades biológicas distintas são observadas quando compostos quirais interagem com a mosca-branca e o ácaro rajado.

Diante disso, os principais objetivos desse trabalho foram:

1- Determinar a composição química dos óleos essenciais dos gêneros *Citrus* e testar para *Citrus* e *Mangifera* seu potencial fumigante sobre mosca-branca e ácaro rajado, além de investigar a ação desses óleos pelo método de contato residual sobre o ácaro rajado;

2- Investigar o potencial acaricida dos óleos das folhas, caule e inflorescência de *P. marginatum* sobre o ácaro rajado e seu predador *N. californicus*;

3- Avaliar os óleos essenciais quanto à deterrência de oviposição e atividade repelente através do teste com chance de escolha sobre o ácaro rajado;

4- Investigar a toxicidade dos constituintes puros selecionados a partir dos óleos sobre mosca-branca e ácaro rajado e avaliar a propriedade repelente e de deterrência de oviposição para ácaro rajado desses compostos;

5- Avaliar a propriedade biológica sobre ácaro rajado e mosca-branca dos estereoisômeros quirais (R) e (S)-limoneno e os diastereoisômeros (Z) e (E)-asarone apenas sobre ácaro rajado.

Literatura citada

- Afify, A.E.M.R., F.S. Ali & T. A.F. 2012.** Control of *Tetranychus urticae* Koch by extracts of three essential oils of chamomile, marjoram and *Eucalyptus*. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 24-30.
- Alwala, O.J., W. Wanzala, R.A. Inyambukho, E.M. Osundwa & I.O. Ndiege. 2010.** Characterization and evaluation of repellent effect of essential oil of *Mangifera indica* L. from Kenya. J. Essent. Oil Bear. Plants. 13(1): 85-96.
- Araújo-Junior, C.P., C.A.G. Câmara, I.A. Neves, N.C. Ribeiro, C.A.Gomes, M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three Citrus species cultivated in NE Brazil. Nat. Prod. Commun. 5(3): 471-6.
- Aslan İ, H. Özbek, O. Çalmasur & F. Şahin. 2004.** Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Ind. Crop. Prod. 19: 167-173.
- Assis, C.P.O., M.G.C. Gondim, H.A.A. Siqueira & C.A.G. Câmara. 2011.** Toxicity of essential oils from plants towards *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) and *Suidasia pontifica* Oudemans (Acari: Astigmata). J. Stored Prod. Res. 47(4): 311-315.
- Attia, S., K.L. Grissa, G. Lognay, S. Heuskin, A.C. Mailleux, & T. Hance. 2011.** Chemical Composition and Acaricidal Properties of *Deverra scoparia* Essential Oil (Araliales: Apiaceae) and Blends of Its Major Constituents Against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). J. Econ. Entomol. 104(4):1220-1228.
- Autran, E.S., I.A. Neves, C.S.B. da Silva, G.K.N. Santos, C.A.G. da Câmara & D.M.A.F. Navarro. 2009.** Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). Bioresour. Technol. 100: 2284-2288.
- Baldin, E.L.L., A.E.M. Crotti, K.A.L. Wakabayashi, J.P.G.F. Silva, G.P. Aguiar, E.S. Souza, R.C.S. Veneziani & M. Groppo. 2013.** Plant-derived essential oils affecting settlement and oviposition of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B on tomato. J. Pest Sci. 86:301–308.
- Barro, P.J., S. Liu, L.M. Boykin & A.B. Dinsdale. 2011.** *Bemisia tabaci*: A Statement of Species Status. Annu. Rev. Entomol. 56:1-19.
- Borges, M., M.C.B. Moraes & R. Laumann, R. 2004.** Armadilha contra os percevejos. Rev. Cultivar. 118(1): 12-14.
- Brown, J.K. & J. Bird. 1992.** Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. Plant Dis. 76: 220-25.

- Choi, W., S. Lee, H. Park & Y. Ahn. 2004.** Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 97(2): 553-558.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Junior & C.A.G. Câmara. 2011.** Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). Ciênc. Agrotec. 35(1): 172-178.
- Costa, A.S., C.L. Costa & H.F.G. Sauter. 1973.** Surto da mosca branca em culturas do Paraná e São Paulo. An. Soc. Entomol. Bras. 2(10): 20-30.
- Costa, A.S. 1976.** Whitefly-transmitted plant diseases. Annu. Rev. Phytopathol. 14: 429-449.
- Croft, B.A. 1990.** Management of pesticide resistance in arthropod pests, p. 149-168. In M.B. Green, W.K. Moberg & H.M. Lebaron (eds.), Managing Resistance to Agrochemicals: Fundamental and Practical Approaches to Combating Resistance. Washington, J. Amer. Chem. Soc., 498p.
- De Moraes, J.G. 1985.** Ácaros e insetos associados a algumas culturas irrigadas do Submédio São Francisco. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Circular técnica nº 4. 31p.
- Devine, G.J., M. Barber, & I. Denholm. 2001.** Incidence and inheritance of resistance to METI-acaricides in European strains of the two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). Pest Manag. Sci. 57: 443-448.
- Ehrlich, P.R. & P.H. Raven. 1964.** Butterflies and plants: A study in co-evolution. Evolution. 18. 586-608.
- Enan, E.E. 2005a.** Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from american cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. Arch. Insect Biochem. Physiol. 59(3): 161-171.
- Enan, E.E. 2005b.** Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. Insect Biochem. Molec. Biol. 35(4): 309-321.
- Erdogan, C., G.D. Moores, M.O. Gurkan, K.J. Gorman & I. Denholm. 2008.** Insecticide resistance and biotype status of populations of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Turkey. Crop Prot. 27: 600-605.
- Fadini, M.A.M., A. Pallini & M. Venzon. 2004.** Controle de ácaros em sistema de produção integrada de morango. Ciên. Rural. 34: 1271-1277.
- Ferla, N.J., M.M. Marchetti & D. Goncalves. 2007.** Ácaros predadores (Acari) associados à cultura do morango (*Fragaria* sp., Rosaceae) e plantas próximas no Estado do Rio Grande do Sul. Biota Neotropica. 7(2): 103-110.

- Fernandes, G.W. 1994.** Plant mechanical defenses against insect herbivory. *Rev. Bras. Entomol.* 38(2): 421-433.
- Flechtmann, C.D.W. 1985.** Ácaros de importância agrícola. 6.ed. São Paulo: Nobel. 189p.
- Gelman, D.B & D. Gerling. 2003.** Host plant pubescence: Effect on silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* fourth instar and pharate adult dimensions and ecdysteroid titer fluctuations. *J Insect Sci.* 3: 25.
- Gerson, U. & P.G. Weintraub. 2012.** Mites (Acari) as a factor in greenhouse management. *Annu. Rev. Entomol.* 57: 229-47.
- Govindarajan, M. 2010.** Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth (Rutaceae) against three mosquito species. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 3(11): 874–877.
- Grbic, M.; T.V. Leeuwen, R.M. Clark, S. Rombauts, P. Rouze, V. Grbic, E.J. Osborne, W. Dermauw, P.C.T. Ngoc, F. Ortego, P. Hernandez-Crespo, I. Diaz, M. Martinez, M. Navajas, E. Sucena, S. Magalhães, L. Nagy, R.M. Pace, S. Djuranovic, G. Smagghe, M. Iga, O. Christiaens, J.A. Veenstra, J. Ewer, R.M. Villalobos, J.L. Hutter, S.D. Hudson, M. Vélez, S.V. Yi, J. Zeng, A.P. Silva, F. Roch, M. Cazaux, M. Navarro, V. Zhurov, G. Acevedo, A. Bjelica, J.A. Fawcett, E. Bonnet, C. Martens, G. Baele, L. Wissler, A. Sanchez-Rodriguez, L. Tirry, C. Blais, K. Demeestere, S.R. Henz, T.R. Gregory, J. Mathieu, J. Verdon, L. Farinelli, J. Schmutz, E. Lindquist, E. Feyereisen, & Y.V. Peer. 2011.** The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature.* 472: 487-492.
- Haji, F.N.P., M.A.Z. Mattos, J.A. Alencar, F.B. Barbosa & B.J. Paranhos. 2005.** Manejo da mosca-branca na cultura do tomate. Petrolina, PE, Embrapa Semi-Árido, 16p. (Comunicado Técnico 81).
- Han, J., S. Kim, B. Choi, S. Lee & Y. Ahn. 2011.** Fumigant toxicity of lemon eucalyptus oil constituents to acaricide-susceptible and acaricide-resistant *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* 67: 1583-1588.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 2006. 51:45–66.
- Kim, S. & D. Lee. 2014.** Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. *J. Asian-Pac. Entomol.* 17: 13-17.
- Kim, S., S. Chae, H. Youn & S. Yeon. 2011.** Contact and fumigant toxicity of plant essential oils and efficacy of spray formulations containing the oils against B- and Q-biotypes of *Bemisia tabaci*. *Pest Manag. Sci.* 67: 1093-1099.

- Lacerda, J.T. & Carvalho, R.A. 2008.** Descrição e manejo integrado da mosca-branca (*Bemisia* spp.) transmissora de geminivirus em culturas econômicas. *Tecnol. & Ciên. Agropec.* 2: 15-22.
- Lima, A.C.S. & F.M. Lara. 2001.** Mosca-branca (*B. tabaci*): Morfologia, bioecologia e controle. Jaboticabal. 76p.
- Maróstica-Júnior, M.R. & G.M. Pastore. 2007.** Biotransformação de limoneno: uma revisão das principais rotas metabólicas. *Quim. Nova.* 30 (2): 382-387.
- Merlino, T. 2009.** O veneno no pão nosso de cada dia. Em: **Rede Brasileira Contra os Agrotóxicos Revista Caros Amigos.** Disponível em: <http://carosamigos.terra.com.br/> Acesso em: 23 dez. 2013.
- Moraes, G.J. & C.H.W. Flechatmann. 2008.** Manual de acarologia: Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto 308p.
- Motazedian, N. S. Ravan & A.R. Bandani. 2012.** Toxicity and repellency effects of three essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *J. Agr. Tech.* 14: 275-284.
- Norashiqin, M., S. Sulaiman, H. Othman & B. Omar. 2009.** Repellency of essential oil of *Piper aduncum* against *Aedes albopictus* in the laboratory. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 25(4): 442-447.
- Oliveira, M.R.V; T.J. Henneberry & P. Anderson. 2001.** History, current status and collaborative research projects of *Bemisia tabaci*. *Crop Prot.* 20: 709-723.
- Oriani, M.A., J.D. Vendramim & R. Brunherotto. 2008.** Aspectos biológicos de *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em seis genótipos de feijoeiro. *Neotrop. Entomol.* 37(2): 191-195.
- Pérez-Fernández, V., M.A. García & M.L. Marina. 2010.** Characteristics and enantiomeric analysis of chiral pyrethroids. *J. Chromatogr. A* 1217: 968–989.
- Priestley, C.M., E.M. Williamson, K.A. Wafford & D.B. Sattelle. 2003.** Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *Br. J. Pharmacol.* 140(8): 1363-1372.
- Roh, H.S., B.H. Lee & C.G. Park. 2013.** Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). *J. Asia-Pac. Entomol.* 16: 245-249.
- Rotimi J. & O.A. Ekperusi. 2012.** Effectiveness of citrus oils as cowpea seed protectant against damage by the Cowpea Bruchid *Callosobruchus maculatus* (F) (Coleopteran: Bruchidae). *Adv. Appl. Sci. Res.* 3(6): 3540-3544.

- Salas, J. & O. Mendoza. 1995.** Biology of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato. Fla. Entomol. 78(1): 154-160.
- Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosmann & J.C.P. Mello. 2002.** Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4.ed. PortoAlegre: Ed. Universidade/UFRS.
- Steinkraus, D., J. Zawislak, G. Lorenz, B. Layton, & R. Leonard. 2003.** Spider mites on cotton in the mid-South. Cotton Inc., Arkansas University, pp. 8
- Toldi, M., N.J. Ferla, C. Dameda & F. Majolo. 2013.** Biology of *Neoseiulus californicus* feeding on two-spotted spider mite. Biotemas. 26 (2): 105-111.
- Villafañe, E., D. Tolosa, A. Bardón & A. Neske. 2011.** Toxic effects of *Citrus aurantium* and *C. limon* essential oils on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Nat. Prod. Comm. 6(9): 1389-1392.
- Villas Bôas, G.L., F.H. França, A.C. Ávila & I.C. Bezerra. 1997.** Manejo integrado da mosca-branca, *Bemisia argentifolli*. Brasília: Embrapa 11p. (Circular técnica, 11).
- Whalon, M.E., R.M. Mota-Sachez, R.M. Hollingwirth & L. Duynslager. 2008.** Arthropods resistant to pesticides database (ARPD). <http://www.pesticideresistance.org>.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ACARICIDA E INSETICIDA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS CASCAS DOS FRUTOS DE QUATRO ESPÉCIES DE *Citrus* E DO LÁTEX DOS FRUTOS DE DUAS VARIEDADES DE *Mangifera indica* E DE SEUS TERPENÓIDES MAJORITÁRIOS E MINORITÁRIOS¹

NICOLLE DE C. RIBEIRO² & CLÁUDIO A.G. DA CÂMARA³

²Departamento de Agronomia, Área Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, Pernambuco, Brasil.

³Departamento de Ciências Moleculares, Área Tecnologia Ambiental, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, Pernambuco, Brasil.

¹Ribeiro, N.C. & C.A.G. da Câmara. Avaliação do potencial acaricida e inseticida dos óleos essenciais das cascas dos frutos de quatro espécies de *Citrus* e do látex dos frutos de duas variedades de *Mangifera indica* e de seus terpenóides majoritários e minoritários. A ser submetido.

RESUMO – A composição química dos óleos essenciais da casca do limão taiti, siciliano, tangerina cravo e murcot foi determinada por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas, mesma metodologia utilizada para o látex do fruto de manga rosa e espada. Os óleos dos *Citrus* apresentaram limoneno como componente principal, enquanto que para as variedades das mangas, terpinoleno foi o principal do óleo de manga espada, enquanto que β -pineno foi para o óleo de manga rosa. A ação fumigante dos óleos variou de acordo com a praga alvo e revelou que as moscas-brancas foram mais susceptíveis do que o ácaro rajado. Por fumigação, mosca-branca foi mais susceptível aos óleos de limão taiti e siciliano, enquanto que tangerina cravo apresentou maior toxicidade ao ácaro rajado. O efeito acaricida desses óleos foi inferior comparado com o a ação fumigante do eugenol, usado como controle positivo. Porém, o efeito fumigante do óleo de limão taiti sobre a mosca-branca foi o mesmo do controle positivo. Além de tóxico por fumigação, os óleos de *Citrus* e das mangas atuaram como deterrente de oviposição para o ácaro rajado. Baixa toxicidade foi observada para o ácaro rajado pelo método de contato residual. Entre os óleos de *Citrus*, o maior percentual de mortalidade para ácaros na concentração de 1000 $\mu\text{L/mL}$ foi observado para os óleos de tangerina cravo e murcot, enquanto que para os óleos das mangas, o ácaro foi mais susceptível ao da manga espada. Resultados da ação fumigante, deterrente de oviposição e de contato residual sobre o ácaro rajado e da propriedade fumigante sobre mosca-branca dos constituintes puros: *p*-cimeno, linalol, α -terpineol, α -pineno, β -pineno, terpinoleno e (R) e (S)-limoneno são também discutidos.

PALAVRAS-CHAVE: (R) e (S)-limoneno, terpinoleno, contato residual, fumigação, *Bemisia tabaci*, *Tetranychus urticae*

EVALUATION OF INSECTICIDE AND ACARICIDE POTENTIAL OF PEEL FRUITS
ESSENTIAL OILS OF FOUR SPECIES OF *Citrus* AND LATEX FRUITS OF TWO
VARIETIES *Mangifera indica* AND ITS MAJOR AND MINOR TERPENOIDS

ABSTRACT – The chemical composition of essential oils from the peels of the Key lime, lemon, Murcott tangerine and Mandarin orange was determined using gas chromatography-mass spectrometry, the same methodology used for the fruit latex from two varieties of mango (“rosa” and “espada”). Limonene was the major component of the *Citrus* oils, terpinolene was the major component of the oil from the espada mango and β -pinene was the major component of the oil from the rosa mango. The fumigant action of the oils varied depending on the target agricultural pest, with the silverleaf whitefly more susceptible than the two-spotted spider mite. Through fumigation, the silverleaf whitefly was more susceptible to Key lime and lemon oils, whereas the Mandarin orange oil exhibited the greatest toxicity to the two-spotted spider mite. The effect of these oils on the mite was inferior to that of eugenol, which was the positive control. However, the fumigant effect of the Key lime oil on the silverleaf whitefly was the same as that of the positive control. Besides being toxic through fumigation, the *Citrus* oils and mango latex acted as a deterrent to oviposition for the two-spotted spider mite. Low toxicity to the two-spotted spider mite was found using the residual contact method. Among the *Citrus* oils, the highest mite mortality rate at a concentration of 1000 $\mu\text{L}/\text{mL}$ occurred with the Mandarin orange and Murcott tangerine oils. Among the mangos, the mite was more susceptible to the espada variety. This paper also offers a discussion on the biological properties of the constituents of the essential oils (p-cymene, linalool, α -terpineol, α -pinene, β -pinene, terpinolene and (R) and (S)-limonene) and their effects on the two agricultural pests analyzed.

KEY WORDS: (R) and (S)-limonene, terpinolene, residual contact, fumigant, *Bemisia tabaci*,
Tetranychus urticae

Introdução

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* biótipo B (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) e o ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) são pragas cosmopolitas, responsáveis por causar grandes prejuízos em diversas culturas de importância econômica (Razmjou *et al.* 2009, Barro *et al.* 2011). Isto se deve, porque ambas as espécies apresentam alto potencial reprodutivo, bem como rápida adaptabilidade a novos hospedeiros e ambientes, proporcionada pela grande plasticidade genotípica (EMPPPO 2004).

Moscas-brancas alimentam-se da seiva do floema e em altas infestações provoca o enfraquecimento e até a morte das plantas (Barro *et al.* 2011). Além disso, a mosca-branca excreta *honeydew* (substância açucarada) sobre folhas, ramos e frutos, favorecendo o desenvolvimento de fungos saprofíticos, que diminuem a capacidade fotossintética, acarretando na redução da produção (Norman *et al.* 1996). Moscas-brancas também atuam como vetor de vírus, como por exemplo, de geminiviruses (Lima & Lara 2001, Lacerda & Carvalho 2008).

Ácaro rajado alimenta-se do conteúdo celular extravasado por perfurar a epiderme foliar com seus estiletes, provocando manchas pontilhadas que posteriormente adquirem coloração amareladas ou avermelhadas (Gerson & Weintraub 2012). Em altas populações de ácaros, as folhas perdem a capacidade fotossintética, necrosam, secam e caem, provocando a diminuição da produção (Steinkraus *et al.* 2003).

A aplicação de pesticidas sintéticos é o método mais utilizado para o controle de *B. tabaci* e *T. urticae*, pela rápida eficiência. Contudo, este benefício torna-se menos vantajoso, quando o uso contínuo e inadequado desses pesticidas provoca intoxicação humana, contaminação ambiental, eliminação de animais benéficos, bem como o desenvolvimento de populações de pragas resistentes aos inseticidas (Damalas & Eleftherohorinos 2011). Recentemente, populações da mosca-branca e do ácaro rajado têm sido identificadas resistentes a diversos ingredientes ativos

comercializados em vários países, o que tem tornado seu controle cada vez mais difícil (Van Leeuwen *et al.* 2010, Barro *et al.* 2011). Desta maneira, vem se intensificando a busca por métodos de controle de pragas alternativo ao químico como o uso de extratos de plantas ou produtos de origem vegetal (Isman 2000, Moreira *et al.* 2005).

Dentre os extratos de plantas, destacam-se os óleos essenciais, por apresentarem atividade biológica sobre pragas de grãos armazenados (Mahfuz & Khalequzzaman 2007, Coitinho *et al.* 2011), insetos (Aslan *et al.* 2004, Calmasur *et al.* 2006) e ácaros de importância agrícola (Laborda *et al.* 2013, Roh *et al.* 2013). O efeito tóxico de óleos essenciais de plantas do gênero *Citrus* (Rutaceae) cultivadas no Brasil foi relatado sobre *Callosobruchus maculatus* (Rotimi & Ekperusi 2012), *B. tabaci* (Ribeiro *et al.* 2010) e *T. urticae* (Araújo-Júnior *et al.* 2010). Ainda, o efeito repelente do óleo essencial da espécie *Mangifera indica*, fruteira amplamente cultivada no Nordeste brasileiro (Carvalho *et al.* 1997), foi observado sobre o mosquito vetor da malária africana, *Anopheles gambiai* (Alwala *et al.* 2010).

Uma vez verificado o efeito inseticida/acaricida, os óleos essenciais, principalmente, pela volatilidade, podem ser usados no controle de pragas em ambientes fechados, como também na preparação de formulações para o emprego em ambientes abertos (Aslan *et al.* 2004, Calmasur *et al.* 2006). Plantas aromáticas, amplamente cultivadas no Brasil, como as pertencentes ao gênero *Citrus* e da espécie *M. indica*, podem ser alternativas aos pesticidas sintéticos pela formulação de um inseticida botânico tendo como matéria prima, óleos essenciais. Além disso, os custos com a matéria prima podem ser reduzidos, pois os óleos de *Citrus* são extraídos das cascas de frutos, resíduos gerados do processo de produção de suco, contribuindo pra a agregação de valor devido suas propriedades biológicas.

Óleos essenciais das espécies de *Citrus* se caracterizam pelo elevado percentual de limoneno (Araújo-Júnior *et al.* 2010). Já os óleos essenciais de *M. indica* se caracterizam pela

presença de monoterpênos, dentre eles, destacam-se terpinoleno, mirceno e/ou δ -3-careno como constituintes principais (Andrade *et al.* 2000). Há vários relatos na literatura da ação biológica de óleos essenciais de espécies de *Citrus* e *M. indica*, mas até o momento não foram encontrados trabalhos voltados ao estudo da atividade individual de seus constituintes sobre *B. tabaci* e *T. urticae*.

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi investigar o efeito fumigante dos óleos essenciais de *C. aurantifolia*, *C. limon*, *C. sinensis* x *C. reticulata*, *C. reticulata*, *M. indica* var. Rosa e *M. indica* var. Espada, e dos componentes selecionados ρ -cimeno, linalol, α -terpineol, α -pineno, β -pineno, terpinoleno, (R) e (S)-limoneno sobre *B. tabaci* e *T. urticae*. Adicionalmente, avaliou-se a ação residual dos mesmos óleos e constituintes utilizados no efeito fumigante sobre *T. urticae*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos e no Laboratório de Biologia de Insetos, ambos na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Material Vegetal. As espécies do gênero *Citrus* selecionadas foram: *C. aurantifolia* Tanaka (Limão taiti), *C. limon* L. Burm f. (Limão siciliano), *C. reticulata* Blanco (Tangerina cravo) e *C. sinensis* Osbeck x *C. reticulata* Blanco (Tangerina murcot). Nestas plantas os óleos essenciais foram extraídos das cascas de frutos maduros coletados no Sítio Cigarra, no município de Santana do Mundaú Alagoas-AL, em maio de 2008. As espécies foram identificadas pela Dra. Suzene Izidio da Silva do Departamento de Biologia da UFRPE. Uma exsicata de cada espécie foi depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE sob os números: 48734, (*C. aurantifolia*); 48736, (*C. limon*); 48738, (*C. reticulata*); 48740 e (*C. sinensis* x *C. reticulata*). Os

óleos essenciais das duas variedades de *M. indica* foram previamente cedidas por Eduardo Ramos, coletados em látex fo frutos de plantas cultivadas na UFRPE, e as exsiccatas identificadas sob os números: 364 (*M. indica* var. espada) e 363 (*M. indica* var. rosa).

Obtenção dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais de espécies do gênero *Citrus* foram obtidos a partir das cascas dos frutos (100g) de cada espécie de *Citrus* utilizando um aparelho de Clevenger modificado, através da técnica de hidrodestilação por 2 horas. Os óleos inicialmente obtidos foram separados por diferença de densidade da água, secos em sulfato de sódio anidro, estocados em vidros âmbar hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração a +5°C antes de serem submetidos aos bioensaios. O rendimento dos óleos foi expresso em percentagem (g/100g do material vegetal fresco).

Identificação dos Óleos por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas. A análise quantitativa dos óleos de *Citrus* foi realizada utilizando um instrumento Hewlett-Packard 5890 Series II GC, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (30 mm x 0,25 mm x 0,25 mm) J & W Scientific. A temperatura do forno foi programada de 50 – 250 °C a uma taxa de 3 °C/min. A temperatura do injetor e detector foi 250°C. Hélio foi utilizado como gás de arraste na velocidade de 1 L/min e 30 p.s.i. no modo split (1:30). O volume de amostra injetada foi 0,5 µL de uma solução 1/100 diluída com hexano. A quantidade de cada composto foi calculada a partir da área do pico do composto no CG e expresso em percentagem relativa do total da área do cromatograma. Os índices de retenção foram obtidos pela co-injeção do óleo com uma mistura de hidrocarbonetos lineares C₁₁-C₂₄ e calculados de acordo com a equação de Van den Dool & Kratz (1963). Os compostos foram identificados com base na comparação dos índices de retenção calculados com os disponíveis na literatura, seguida pela comparação do fragmentograma de padrões das massas reportados na literatura, bem como pela comparação direta das sugestões das

massas disponíveis na biblioteca do computador (Wiley, com 250.000 compostos), contemplando apenas as similaridades entre os fragmentogramas.

O óleo essencial do látex dos frutos das variedades de *M. indica* foi previamente identificado pelo mesmo método descrito para os óleos de *Citrus* e reportado por Ramos *et al.* (2012).

Compostos Puros. Para seleção do estereoisômero R ou S, além do preço e disponibilidade no comércio, levou-se em consideração o estereoisômero mais abundante em óleos essenciais (Melliou *et al.* 2009, Palácios *et al.* 2009). Dessa forma, os componentes selecionados para realização dos testes sobre ácaro rajado e mosca-branca foram: *p*-cimeno, linalol, α -terpineol, α -pineno, β -pineno, terpinoleno, (R) e (S)-limoneno e eugenol, usado como controle positivo, foram adquiridos pela Sigma - Aldrich - Brasil.

Criação de *Bemisia tabaci* Biótipo B. A população de *B. tabaci* biótipo B foi devidamente identificada e fornecida pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC) em São Paulo/Brasil. A criação da mosca-branca foi estabelecida sobre plantas de feijão da cultivar Carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) em casa de vegetação do Departamento de Agronomia da UFRPE. Plantas de feijão eram semeadas, em vasos de 5 L contendo uma mistura de terra e húmus (3:1) para manutenção da criação estoque para a realização de bioensaios. As plantas de feijão foram adubadas de acordo com as recomendações da cultura e não foram expostas aos inseticidas.

Criação de *Tetranychus urticae*. A população de *T. urticae* foi adquirida do Laboratório de Acarologia Agrícola da UFRPE. A criação foi estabelecida sobre plantas de feijão-de-porco, (*Canavalia ensiformes* L.) cultivadas em vasos com capacidade de 5 L contendo terra misturada com húmus (3:1). No Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE, para manutenção da criação, plantas com 25 dias de idade eram infestadas com ovos, larvas, ninfas e adultos do ácaro rajado.

A criação estoque não foi exposta aos acaricidas e foi mantida sob a temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 65 ± 5 % e 12 h fotofase.

Bioensaio de Toxicidade Fumigante: Os bioensaios de toxicidade fumigante, deterrência para oviposição e contato residual foram realizados sob a temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 65 ± 5 % e 12 h fotofase.

***Bemisia tabaci*.** O método de fumigação usado nos experimentos foi adaptado ao estabelecido por Pontes *et al.* (2007). De plantas de feijão com 25 a 40 dias de idade, folíolos foram coletados e utilizados como substrato. Para manter a turgidez, esses folíolos foram inseridos em frascos de vidro (5 cm de altura e 3 cm de diâmetro) contendo algodão levemente umedecido com água destilada. Em seguida, esse sistema foi acondicionado em recipientes de vidro com tampa, de capacidade de 1 L, utilizados como câmaras de fumigação. Com o auxílio de um aspirador adaptado, cerca de 15 casais de mosca-branca foram colocados na câmara de fumigação. Na parte inferior central da tampa da câmara de fumigação fixou-se uma tira de papel de filtro (5 x 2 cm) que serviu como suporte do óleo a ser testado. Neste suporte, foram aplicadas com auxílio de uma pipeta automática, diferentes concentrações dos óleos e dos compostos químicos testados, como também do eugenol utilizado como controle positivo. Foram realizados testes preliminares para cada óleo e composto testado. As concentrações utilizadas para os óleos de *Citrus* e *M. indica* foram: 1,0; 2,5; 4,0; 5,5 e 7,0 µL/L de ar (*C. reticulata*), 3,0; 4,5; 6,0; 7,5 e 9,0 µL/L de ar (*C. sinensis* x *C. reticulata*), 0,125; 0,25; 1,0; 3,5 e 5,0 µL/L de ar (*C. aurantifolia*), 0,8; 1,5; 2,2; 3,7 e 4,5 µL/L de ar (*C. limon*), 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 e 12,0 µL/L de ar (*M. indica* var. rosa) e 0,5; 2,0; 3,0; 4,0 e 6,0 µL/L de ar (*M. indica* var. espada). Além disso, para os compostos químicos as concentrações utilizadas foram: 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0 µL/L de ar (ρ -cimeno), 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 3,0 µL/L de ar (R-linalol), 0,2; 1,0; 1,5; 2,0 e 3,0 µL/L de ar (α -terpineol), 4,0; 8,0; 10,0; 12,0; 14,0 e 16,0 µL/L de ar (α -pineno), 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0 e 14,0 µL/L de ar (β -pineno), 2,0; 3,0;

4,0; 5,0 e 6,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (terpinoleno), 2,0; 3,0; 4,0; 6,0 e 8,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (R-limoneno), 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 e 8,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (S-limoneno) e 0,04; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (eugenol). Entre a câmara de fumigação e a tampa foi colocado um tecido *voil* com intuito de evitar o contato direto dos insetos com o óleo.

Tetranychus urticae. O método de fumigação usado nos experimentos foi adaptado ao estabelecido por Pontes *et al.* (2007). Aos 25 a 40 dias após a emergência das plantas de feijão-deporco foram coletadas as folhas mais desenvolvidas, das quais discos foram cortados, com o auxílio de um vazador de metal cilíndrico de 2,5 cm de diâmetro. Em seguida, três discos foliares foram inseridos equidistantes em uma placa de Petri (9 cm de diâmetro), contendo um disco de papel de filtro (8,5 cm de diâmetro) saturados com água, para evitar a fuga dos ácaros e manter a turgidez das folhas. Cada disco foliar foi infestado com 10 fêmeas adultas do ácaro rajado, totalizando 30 ácaros por placa de Petri, sendo esta posteriormente, acondicionada na câmara de fumigação. Os óleos essenciais foram aplicados com auxílio de um pipetador automático em tiras de papéis de filtro de 5 x 2 cm, estes posteriormente presos à superfície interna da tampa da câmara de fumigação. Foram realizados testes preliminares para cada óleo e composto testado. As concentrações utilizadas para os óleos de *Citrus* e *M. indica* foram: 1,5; 3,0; 4,5; 6,0; 7,5, 9,0 e 10,5 $\mu\text{L/L}$ de ar (*C. reticulata*), 3,0; 5,0; 7,0; 9,0; 11,0; 13,0 e 15,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (*C. sinensis* x *C. reticulata*), 2,0; 5,0; 8,0; 11,0; 14,0 e 17,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (*C. aurantifolia*), 3,0; 5,0; 7,0; 9,0; 11,0 e 13,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (*C. limon*), 3,0; 6,0; 9,0; 12,0; 15,0 e 18,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (*M. indica* var. rosa) e 3,0; 5,0; 7,0; 10,0; 13,0 e 15,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (*M. indica* var. espada). Além disso, para os compostos químicos as concentrações utilizadas foram: 0,5; 1,0; 5,0; 7,0; 10,0; 13,0 e 14,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (p -cimeno), 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6 e 3,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (R-linalol), 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (α -terpineol), 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 e 30,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (α -pineno), 1,0; 5,0; 7,0; 10,0; 12,0 e 14,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (β -pineno), 0,2; 0,4; 2,0; 3,0 e 4,0 $\mu\text{L/L}$ de ar (terpinoleno), 4,0; 7,0; 10,0;

13,0 e 16,0 µL/L de ar (R-limoneno), 1,0; 5,0; 10,0; 12,5; 15,0 e 17,5 µL/L de ar (S-limoneno) e 0,000064; 0,00032; 0,0016; 0,008 e 1,2 µL/L de ar (eugenol).

No bioensaio de toxicidade fumigante com *B. tabaci* e *T. urticae*, o tratamento controle foi isento de aplicação. Logo que aplicado o óleo/composto, a câmara de fumigação foi tampada e vedada com filme plástico PVC[®]. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três replicatas, totalizando três repetições. Transcorrido o período de exposição (24 h) das moscas-brancas e do ácaro rajado ao óleo essencial, iniciaram-se as avaliações. Assim, foi verificada a mortalidade considerando o indivíduo morto, quando, ao ser tocado levemente por um pincel com cerdas finas, apresentava incapacidade de se deslocar por uma distância superior ao comprimento do seu corpo. Além disso, foi contabilizado o número de ovos referente a cada concentração testada.

Bioensaio de Deterrência para Oviposição com *T. urticae* por Fumigação. A fim de avaliar o efeito deterrente de oviposição dos vapores dos óleos essenciais das espécies de *Citrus* e das variedades de *M. indica* sobre *T. urticae* foram realizados bioensaios utilizando a metodologia adaptada de Pontes *et al.* (2007). Cinco discos de folha de feijão-de-porco (1,5 cm) foram colocados equidistantes em uma placa de Petri (10 cm) contendo um disco de papel de filtro saturado com água. Cada disco foliar foi infestado com uma fêmea adulta do ácaro rajado, totalizando cinco fêmeas por placa de Petri, que foi posteriormente, acondicionada em câmara de fumigação. Os óleos essenciais e os compostos químicos foram aplicados com o auxílio de pipeta automática em tiras de papel de filtro (10 x 2 cm) presas à superfície interna da tampa da câmara de fumigação. Utilizou-se a menor concentração do óleo essencial e do composto, referente ao teste de toxicidade fumigante com *T. urticae*, que reduziu a oviposição em comparação estatística com o controle. Para os óleos essenciais utilizou-se o Limão taiti (2,0 µL/L de ar), Limão siciliano (5,0 µL/L de ar), Tangerina cravo (1,5 µL/L de ar), Tangerina murcot (3,0 µL/L de ar), *M. indica*

var. rosa (6,0 µL/L de ar) e *M. indica* var. espada (3,0 µL/L de ar). Para os compostos químicos utilizou-se (R)-limoneno (4,0 µL/L de ar), (S)-limoneno (1,0 µL/L de ar) α-pineno (5,0 µL/L de ar), β-pineno (2,0 µL/L de ar), terpinolene (0,4 µL/L de ar), p-cimeno (0,5 µL/L de ar), R-linalol (1,0 µL/L de ar), α-terpineol (0,5 µL/L de ar) e o eugenol, (0,000064 µL/L de ar). O teste consistiu em utilizar um ácaro fêmea em disco foliar de 1,5 cm, que posteriormente foi submetido ao procedimento de toxicidade fumigante, mencionados anteriormente. O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco replicatas, totalizando dez repetições. Após 24h de exposição ao óleo e composto, quantificou-se o número de ovos do tratamento e do controle.

Bioensaio de Contato Residual com *T. urticae*. Os testes de efeito residual foram realizados utilizando a metodologia adaptada de Miresmailli *et al.* (2006). Para os experimentos foram utilizados discos de folha de feijão-de-porco de 2,5 cm de diâmetro. Os discos foram imersos em soluções, contendo os óleos essenciais ou constituintes químicos, preparadas pela diluição em metanol. Para o controle os discos foram tratados apenas com metanol. Após a secagem em temperatura ambiente, cada disco foliar foi transferido para uma placa de Petri (10 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura) contendo disco de papel de filtro umedecido com água destilada. Dez fêmeas adultas do ácaro rajado foram transferidas para cada disco foliar, totalizando 30 ácaros por placa de Petri. Testes preliminares foram desenvolvidos para posteriormente serem determinadas as concentrações dos óleos essenciais das espécies de *Citrus* e *M. indica*, bem como dos constituintes químicos. Somente as concentrações do óleo de *M. indica* var. espada (200,0; 350,0; 500,0; 650,0 e 800,0 µL/mL) e dos compostos R-linalol (1,0; 25,0; 50,0; 100,0 e 300,0 µL/mL) e α-terpineol (10,0; 25,0; 50,0; 100,0; 300,0 e 700,0 µL/mL), além do eugenol (1,0; 5,0; 25,0; 30,0; 35,0 e 50,0 µL/mL) ajustaram-se estatisticamente. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três replicatas, totalizando três repetições. Após 24h de exposição foi determinada a

mortalidade, considerando o ácaro morto da mesma maneira que foi mencionada no bioensaio de toxicidade fumigante. Além disso, quantificou-se o número de ovos relativo a cada concentração testada.

Análise Estatística. Nos bioensaios de toxicidade fumigante e contato residual os dados relativos ao número de ovos foram submetidos à transformação ($\sqrt{x+0,5}$). Após atenderem aos testes de normalidade e homogeneidade de variância (Proc univariate e GLM), os dados de mortalidade e do número de ovos foram submetidos à ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P=0,05$), utilizando o software SAS (versão 9.0) (SAS Institute 2002). Em seguida, os dados de mortalidade foram submetidos a análise de PROBIT, utilizando o software POLO-PC (LeOra Software 1987) para obtenção das inclinações das curvas e estimativas das CL_{50} dos óleos e compostos testados. As razões de toxicidade e seus intervalos de confiança a 95% foram calculados segundo método descrito por Robertson & Preisler (1992), e consideradas significativas quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0. No bioensaio de deterrência para oviposição, foi aplicado o Teste T para comparar os dados referentes ao número de ovos/fêmea do tratamento e do controle.

Resultados e Discussão

Os constituintes químicos encontrados nos óleos de *Citrus* e identificados por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas estão apresentados na Tabela 1.

Com base na técnica de hidrodestilação, os rendimentos dos óleos essenciais das cascas das espécies de *Citrus* e do látex das variedades de *M. indica* testados são apresentados na Tabela 2. Os mais altos rendimentos foram obtidos para o óleo essencial do látex das mangas, seguido das cascas das tangerinas e limões. Os constituintes químicos selecionados a partir das espécies de *Citrus* e variedades de *M. indica* foram aqueles que ocorrem concomitantemente em cada espécie

do mesmo gênero, levando em consideração também sua disponibilidade comercial. Isso posto, os constituintes químicos selecionados são descritos na Tabela 2.

A ação acaricida e inseticida observada quando vapores dos óleos essenciais das espécies de *Citrus* e das duas variedades de manga foram expostos ao ácaro rajado e mosca-branca variou de acordo com o tipo de óleo e da metodologia empregada. As Figuras 1 e 2 apresentam a quantidade de ovos e a mortalidade observada sob diferentes concentrações dos óleos essenciais.

Os resultados apresentados nas Figuras 1 e 2 mostram que a mortalidade de mosca-branca e ácaro rajado para os diferentes óleos testados variou de acordo com a espécie botânica que se extraiu o óleo essencial. Em geral, as moscas-brancas foram mais susceptíveis aos óleos testados do que o ácaro rajado. Este fato é verificado nas concentrações testadas que foram mais elevadas para o ácaro rajado, que provocou uma mortalidade acima de 95%. Nas Figuras 3 e 4 são apresentadas as mortalidades e oviposição de mosca-branca e ácaro rajado quando expostos aos constituintes dos óleos testados. São apresentadas, na Figura 5, a mortalidade e oviposição de mosca-branca e ácaro rajado quando submetidos a exposição do eugenol, controle positivo.

A partir da análise de Probit, os valores estimados das CL_{50} dos óleos de espécies de *Citrus* e variedades de *M. indica* em bioensaios de fumigação sobre *B. tabaci* e *T. urticae* variaram de acordo com o tipo do óleo e praga usados. As Tabelas 3 e 4 apresentam a ação fumigante e a razão de toxicidade dos óleos essenciais das espécies de *Citrus* e das variedades de *M. indica* e alguns monoterpenos selecionados. Com exceção do óleo essencial de *M. indica* da var. rosa, que apresentou o mesmo nível de toxicidade para ambas as pragas, a mosca-branca foi mais sensível aos vapores dos outros óleos testados. A ordem de toxicidade por fumigação desses óleos sobre mosca-branca revelou que os óleos de limão laiti e limão siciliano foram os mais tóxicos, seguido do óleo de tangerina cravo, manga espada, tangerina murcot e manga rosa

(Tabela 3). No entanto, considerando os intervalos de confiança obtidos para as CL_{50} , os óleos de limão siciliano, tangerina cravo e manga espada apresentaram o mesmo nível de toxicidade.

Por outro lado, esses óleos apresentaram ordem de toxicidade diferente para o ácaro rajado (Tabela 4). Entre os óleos testados, o mais tóxico foi o óleo de tangerina cravo e o menos tóxico foi o limão taiti. Considerando os intervalos de confiança das CL_{50} estimadas para esses óleos, tem-se que a toxicidade apresentada para o óleo de tangerina cravo, manga espada e manga rosa foi a mesma, comparadas entre si. Por outro lado, a toxicidade do óleo de manga espada foi a mesma apresentada pelo óleo de limão siciliano, o qual apresentou o mesmo nível de toxicidade do óleo de limão taiti e tangerina murcot (Tabela 4).

De acordo com a Razão de toxicidade (RT_{50}) calculada nas Tabelas 3 e 4, verifica-se que as populações de mosca-branca e ácaro rajado responderam de forma diferente aos óleos essenciais testados. A população de ácaro rajado foi considerada mais heterogênea aos óleos de *Citrus* e das mangas, quando comparada a mosca-branca, e essa variabilidade entre indivíduos de uma mesma população é indicada pela inclinação da curva de concentração-mortalidade (Kerns & Gaylor 1992). Curvas com menor inclinação indicam maior variabilidade genética, sugerindo a presença de mais de um genótipo na população, denotando uma maior heterogeneidade de resposta aos inseticidas (Siqueira *et al.* 2000). Isto mostra que potencialmente tem havido pressões de seleção diferencial e/ou diversidade genética intra e interpopulacional que pode explicar a variabilidade observada nestes resultados.

Comparando a toxicidade desses óleos essenciais com o controle positivo, eugenol, com exceção do óleo de limão taiti, o controle positivo foi mais potente do que os demais óleos testados para mosca-branca (Tabela 3). Já para o ácaro rajado, o controle positivo foi mais tóxico do que todos os óleos testados (Tabela 4).

Vários trabalhos têm sido reportados, avaliando a ação inseticida e acaricida de óleos essenciais coletados em diferentes regiões do mundo sobre mosca-branca e ácaro rajado (Aslan *et al.* 2004, Calmasur *et al.* 2006, Yang *et al.* 2010, Laborda *et al.* 2013). Porém, nenhum relatando a ação de óleos essenciais de *M. indica* sobre mosca-branca e ácaro rajado.

Recentemente, Kim *et al.* (2011) reportaram a ação fumigante do óleo essencial de espécies de *C. aurantifolia* (limão taiti) e *C. reticulata* (tangerina cravo), cultivadas na Coreia do Sul, sobre *B. tabaci* biótipo Q e B. Porém, apenas o óleo de *C. aurantifolia* revelou atividade para Biotipo Q, com uma CL_{50} estimada em 0,91 mL/cm³. Estes resultados comparados com os óleos essenciais obtidos a partir de plantas cultivadas no Nordeste brasileiro, testados sobre o biótipo B, foram mais tóxicos do que os óleos das espécies cultivadas na Coreia do Sul.

Por outro lado, óleos essenciais dessas mesmas espécies de *Citrus*, coletada na Coreia do Sul, foram testadas quanto a ação fumigante sobre o ácaro rajado e apresentaram na concentração de 19×10^{-3} µL/mL de ar (19,0 µL/L de ar) mortalidade inferior a 70% (Choi *et al.* 2004). Mais uma vez, estes resultados comparados com os obtidos para os óleos das plantas cultivadas no Brasil foram inferiores. Ou seja, os óleos de limão taiti e tangerina cravo, cultivadas no Brasil, promoveram mortalidade > 95% nas concentrações de 17,0 e 10,5 µL/L de ar, respectivamente. Atividade inseticida/acaricida diferente de óleos essenciais provenientes de mesma espécie botânica pode ser explicada pela variabilidade genética das plantas coletadas em diferentes sítios de cultivo e condições climáticas, que interferem na produção e acúmulo de componentes do óleo essencial (Isman 2000).

Os resultados expostos até o momento sugerem que todos os óleos essenciais apresentaram propriedades inseticida e acaricida e que essa atividade é decorrente dos componentes químicos que constituem os óleos essenciais selecionados das espécies de *Citrus* e das variedades de *M. indica*. Por isso, torna-se imperativo avaliar e comparar a atividade individual desses constituintes

que fazem parte de cada óleo investigado. Dessa forma, os valores das CL_{50} dos compostos selecionados a partir dos óleos das espécies de *Citrus* (linalol, α -terpineol, α -pineno e limoneno) e *M. indica* (terpinoleno, ρ -cimeno, α -pineno, β -pineno e limoneno) sobre mosca-branca e ácaro rajado são apresentados na Tabela 3 e 4, respectivamente.

Entre as populações de mosca-branca e ácaro rajado pode-se concluir que a RT_{50} foi mais heterogênea para os ácaros também quando testados os constituintes químicos. Fato que implica em indivíduos mais heterogêneos com grande variabilidade genética, respondendo de forma diferenciada ao controle com o óleo essencial.

Com exceção do α -pineno, que apresentou a menor atividade, tanto para ácaro rajado quanto para mosca-branca, a toxicidade dos outros constituintes químicos variou de acordo com a praga testada. Por exemplo, a mosca-branca foi mais susceptível do que o ácaro rajado quando submetido aos compostos α -terpineol e linalol. Por outro lado, o terpinoleno foi mais ativo para o ácaro rajado.

A ordem de toxicidade obtida para os compostos encontrados nos óleos das espécies de *Citrus* e variedades de *M. indica* sobre mosca-branca foi α -terpineol = linalol > (R)-limoneno > α -pineno e ρ -cimeno = terpinoleno = (R)-limoneno > β -pineno > α -pineno, respectivamente.

Entre os constituintes químicos testados sobre o ácaro rajado, o mais ativo foi terpinoleno e o que apresentou menor potencial foi o α -pineno. Considerando os constituintes selecionados a partir das espécies pertencentes aos gêneros *Citrus* e *M. indica*, a ordem de toxicidade dos constituintes químicos selecionados sobre o ácaro rajado foi α -terpineol = linalol > (R)-limoneno = α -pineno para espécies de *Citrus* e para as variedades de *M. indica* foi terpinoleno > ρ -cimeno = β -pineno > (R)-limoneno = α -pineno.

Em geral, a interação de compostos quirais, com um organismo vivo apresenta atividade biológica distinta (Barreiros *et al.* 1997). No entanto, a toxicidade fumigante sobre o ácaro rajado e mosca-branca observada para os enantiômeros (R) e (S)-limoneno não diferiram significativamente entre si.

Limoneno foi o componente principal identificado em todos os óleos das espécies de *Citrus* investigado. Seu percentual variou de 38,9% no limão taiti e 80,2% na tangerina cravo. No entanto, com base nas CL_{50} estimadas para os compostos selecionados, apenas os constituintes minoritários: linalol (0,1% no limão siciliano e 4,5% na tangerina murcot) e α -terpineol (0,3% na tangerina cravo e 5,2% no limão taiti) apresentaram toxicidade para mosca-branca por fumigação, similar da observada para os óleos de limão taiti e limão siciliano. Já sobre o ácaro rajado, esses componentes minoritários apresentaram atividade cerca de 3,1 vezes mais tóxico do que o óleo de tangerina cravo. Esses resultados sugerem que esses compostos, independentemente da quantidade no óleo essencial, eles exercem um papel de extrema significância na atividade observada para o óleo.

Estes resultados estão de acordo com os observados por Jiang *et al.* (2009), para os constituintes minoritários do óleo de *Litsea pungens*, limoneno (7,5%), linalol (2,4%) e geranyl (2,2%), apresentaram toxicidade sobre *Trichoplusia ni*, no mesmo nível do observado para o óleo de *L. pungens*.

Estes resultados apresentados para atividade inseticida e acaricida dos óleos essenciais de espécies de *Citrus* e *M. indica* sugerem que nem sempre a propriedade biológica de um óleo e/ou extrato vegetal é atribuída ao componente principal do material testado, como observado por Andrade *et al.* (2004), para o α -bisabolol (79%), constituinte principal do óleo *Vanillasmopsis pohlii*, que apresentou o mesmo nível de toxicidade sobre *Bemisia argentifolii* observado pelo óleo essencial. Resultado semelhante foi observado por Miresmailli *et al.* (2006) para o

constituente majoritário do óleo de *Rosmarinus officinalis*, 1,8-cineol (31,5%), cuja atividade sobre o ácaro rajado foi no mesmo nível observado para o óleo. Han *et al.* (2011) para a toxicidade do componente minoritário, acetato de citronelila (2,2%), que promoveu mortalidade do ácaro rajado no mesmo nível do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*.

Para os constituintes testados a partir do óleo do látex da manga rosa e espada sobre mosca-branca e ácaro rajado, os testes com os constituintes selecionados, sugerem que a atividade observada para os respectivos óleos é basicamente atribuída aos seus compostos majoritários. Essa atribuição fica mais evidente ao se comparar as toxicidades dos compostos majoritários, individualmente, com os óleos de manga rosa e espada como apresentado na Tabela 2.

Nos óleos de látex da manga espada, os constituintes α e β -pineno estão presentes em percentuais abaixo de 2,0% e o componente principal é o terpinoleno (73,6%), enquanto que no óleo do látex da manga rosa o componente principal é o β -pineno (40,7%) seguido de terpinoleno (28,3%) e α -pineno (11,5%). De acordo com as CL_{50} estimadas para esses constituintes, apenas os compostos terpinoleno e β -pineno apresentaram toxicidade sobre mosca-branca no mesmo nível observado para o óleo do látex da manga espada e rosa, respectivamente. Além disso, observou-se que o β -pineno (presente no óleo de manga espada em percentuais inferiores a 2%) apresentou toxicidade sobre mosca-branca inferior do apresentado para o óleo do látex da manga espada, enquanto que o componente principal, terpinoleno (73,6%) foi cerca de 1,8 vezes mais tóxico do que o óleo do látex da manga rosa.

Por outro lado, enquanto que a toxicidade do β -pineno sobre ácaro rajado foi igual para ambos os óleos das variedades de manga, para o ρ -cimeno, componente minoritário do óleo da manga rosa (0,3%) e espada (0,4%) e terpinoleno, apresentaram atividades acaricidas superiores aos óleos da manga rosa e espada. Entre os constituintes químicos testados contra o ácaro rajado, β -pineno e limoneno apresentaram toxicidade no mesmo nível dos óleos de manga rosa e espada,

enquanto que α -pineno apresentou mesma atividade do que o óleo da manga rosa, mas cerca de 1,6 vezes menos tóxica do que o óleo de manga espada.

Esses dados sugerem que o percentual de um componente no óleo quando ele apresenta atividade significativa contribui bastante na toxicidade observada para o óleo investigado independentemente do seu percentual no óleo. Esses resultados corroboram os dados reportados para atividade de outros óleos essenciais sobre mosca-branca (Andrade *et al.* 2004) e ácaro rajado (Miresmailli *et al.* 2006, Attia *et al.* 2011, Lim *et al.* 2011), bem como outras pragas (Kim & Lee 2014).

Na realização dos experimentos para avaliar a ação dos óleos essenciais das espécies de *Citrus* e *M. indica* sobre ácaro rajado por fumigação, além da mortalidade, constatou-se uma redução no número de ovos bastante significativa, mesmo nas menores concentrações dos óleos. Esses resultados sugerem que os vapores dos óleos essenciais podem atuar na deterrência de oviposição.

Nas Figuras 6 e 7 são apresentadas as quantidades de ovos por fêmea de *T. urticae* submetidos aos óleos das espécies de *Citrus* e *M. indica* e seus constituintes selecionados, na menor concentração em que o número de ovos diferiu significativamente do controle.

Os dados obtidos nos teste de fecundidade revelaram que a média de ovos ovipositados por ácaro, expostos aos óleos das espécies de *Citrus* e *M. indica* e seus constituintes selecionados por 24h diferiram significativamente do controle (Fig. 6 e 7). Resultados semelhantes foram reportados para as menores concentrações para os óleos de *Salvia officinalis* e *Datura stramonium* (Kumral *et al.* 2010, Laborda *et al.* 2013) e o santalol, componente principal do óleo essencial *Santalum austrocaledonicum* (Roh *et al.* 2011) quando submetidos ao *T. urticae*.

Os bioensaios de fumigação indicam que tanto os óleos quanto os componentes selecionados atuam na mortalidade de ácaros e mosca-branca e na deterrência de oviposição do

ácaro rajado. O tipo de bioensaio nos garante que esses produtos atuam através da penetração dos vapores pelas vias respiratórias das pragas testadas. Óleos essenciais e seus constituintes químicos têm sido investigados quanto ao efeito fumigante e contato residual sobre *T. urticae* (Choi *et al.* 2004, Han *et al.* 2011). Dessa forma, utilizando apenas o ácaro rajado, como modelo biológico no intuito de comparar sua susceptibilidade aos óleos por meio dos bioensaios de fumigação e toxicidade residual, os óleos e compostos individuais foram avaliados quanto ao potencial acaricida através do bioensaio de contato residual.

Avaliação da atividade acaricida dos óleos de *Citrus* e *M. indica*, por bioensaios de contato residual revelou baixa toxicidade ao ácaro rajado. Na concentração de 1000 $\mu\text{L}/\text{mL}$, enquanto os óleos de limão siciliano e taiti apresentaram mortalidade abaixo de 50 %, os de tangerina cravo e tangerina murcot apresentaram mortalidade de 81% e 75%, respectivamente. A Figura 8 apresenta as médias de mortalidades, nas maiores concentrações testadas, para os óleos das espécies de *Citrus* (1000 $\mu\text{L}/\text{mL}$) e variedades de *M. indica* (800 $\mu\text{L}/\text{mL}$). Baixa toxicidade também foi observada para os constituintes químicos selecionados e testada individualmente na maior concentração (400 $\mu\text{L}/\text{mL}$), inclusive para os estereoisômeros (R) e (S)-limoneno, que promoveram um percentual de mortalidade sobre o ácaro rajado inferior a 10%, e esses enantiômeros, não diferiram significativamente entre si.

Dessa forma, os valores das CL_{50} só foram estimados para os óleos que apresentaram média de mortalidade maior do que 95% na concentração de 800 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Entre os óleos investigados, na Figura 9, a CL_{50} foi estimada apenas para o óleo de manga espada ($CL_{50} = 458,17 \mu\text{L}/\text{mL}$). O controle positivo ($CL_{50} = 26,26 \mu\text{L}/\text{mL}$) apresentou maior toxicidade para todos os óleos e constituintes químicos testados. Entre os constituintes selecionados, as CL_{50} foram estimadas apenas para o α -terpineol ($CL_{50} = 107,80 \mu\text{L}/\text{mL}$) e linalol ($CL_{50} = 63,14 \mu\text{L}/\text{mL}$). Na Figura 8 foi comparada a média de mortalidade promovida pelo linalol na maior

concentração, 300 $\mu\text{L}/\text{mL}$, com a mortalidade promovida pelo α -terpineol na mesma concentração. O composto selecionado linalol foi apenas 2,4 vezes menos tóxico do que o controle positivo.

Estes resultados indicam que a toxicidade de óleos e constituintes químicos depende do tipo de bioensaio empregado e, que o ácaro rajado é muito mais susceptível pelo método de fumigação. O mesmo foi observado por Lee *et al.* (2003) ao avaliar a atividade acaricida de 34 terpenos.

A toxicidade relativa entre os óleos e entre os constituintes depende do tipo de método usado, fumigante ou contato residual. A propriedade biológica observada para um óleo nem sempre é atribuída ao seu componente principal e que mesmo em quantidades pequenas, a atividade dos outros componentes deve ser levada em consideração. Os dados de fumigação e contato para os estereoisômeros do limoneno não diferiram entre si, independentemente da praga alvo. Testes de toxicidade aguda desses compostos quirais por fumigação e contato residual sobre o ácaro rajado sugerem que os biorreceptores do ácaro não distinguem entre os enantiômeros (R) e (S) do limoneno no bioensaio de fumigação. Com base nas propriedades acaricida e inseticida observados para os óleos de *Citrus* e *M. indica*, os de *Citrus* revelaram-se mais promissores. No entanto, novos estudos devem ser direcionados com relação ao custo-benefício desses óleos para aplicação no manejo do ácaro rajado e da mosca-branca em sistemas agrícolas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de estudo concedida a Nicolle de Carvalho Ribeiro e apoio financeiro através dos projetos APQ-0520-5.01/08 e Projeto Universal CNPq No. 476503/09-4.

Literatura Citada

- Alwala, O.J., W. Wanzala, R.A. Inyambukho, E.M. Osundwa & I.O. Ndiege. 2010.** Characterization and evaluation of repellent effect of essential oil of *Mangifera indica* L. from Kenya. *J. Essent. Oil Bear. Plant.* 13(1): 85-96.
- Andrade, H.H.A., J.G.S. Maia & M.G.B. Zhoghbi. 2000.** Aroma volatile constituents of brazilian varieties of mango fruit. *J. Food Comp. Anal.* 13: 27-33.
- Andrade, I.L., Bezerra, J.N., Lima, M.A.A., Faria, R.A.P.G., Lima, M.A.S. & Andrade-neto, M. 2004.** Chemical composition and insecticidal activity of essential oils from *Vanillosmopsis pohlii* Baker against *Bemisia argentifolii*. *J. Agric. Food Chem.* 52: 5879-5881.
- Araújo-Junior, C.P., C.A.G. Câmara, I.A. Neves, N.C. Ribeiro, C.A.Gomes, M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three Citrus species cultivated in NE Brazil. *Nat. Prod. Commun.* 5(3): 471-476.
- Aslan İ, H. Özbek, O. Çalmasur & F. Şahin. 2004.** Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Ind. Crop. Prod.* 19: 167-173.
- Attia, S., K.L. Grissa, G. Lognay, S. Heuskin, A.C. Mailleux, & T. Hance. 2011.** Chemical composition and acaricidal properties of *Deverra scoparia* essential oil (Araliales: Apiaceae) and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 104(4):1220-1228.
- Barreiros, J.E., V.F. Ferreira & P.R.R. Costa. 1997.** Substâncias enantiomericamente puras (SEP): A questão dos fármacos quirais. *Quim. Nova.* 20(6): 647-656.
- Barro, P.J., S. Liu, L.M. Boykin & A.B. Dinsdale. 2011.** *Bemisia tabaci*: A statement of species status. *Annu. Rev. Entomol.* 56:1-19.
- Calmasur, O., I. Aslan & F. Sahin. 2006.** Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential. *Ind. Crop. Prod.* 23: 140-146.
- Carvalho, J.M., M.C.A. Mendonça, A.J. Reis. 1997.** Produção de manga no Brasil e sua comercialização nos mercados interno e externo. *Cad. Adm. Rural.* 9(1): 53-60.
- Choi, W., S. Lee, H. Park & Y. Ahn. 2004.** Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *J. Econ. Entomol.* 97(2): 553-558.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Junior & C.A.G. Câmara. 2011.** Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). *Ciênc. Agrotec.* 35(1): 172-178.

- Damalas, C.A. & Eleftherohorinos I.G. 2011.** Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 8(5):1402-1419.
- European and mediterranean plant protection organization (EMPPPO). 2004.** Diagnostic protocols for regulated pests-*Bemisia tabaci*. *Bull. OEPP/EPPO.* 34: 281-288.
- Gerson, U. & P.G. Weintraub. 2012.** Mites (Acari) as a factor in greenhouse management. *Annu. Rev. Entomol.* 57: 229-47.
- Han, J., S. Kim, B. Choi, S. Lee & Y. Ahn. 2011.** Fumigant toxicity of lemon eucalyptus oil constituents to acaricide-susceptible and acaricide-resistant *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* 67: 1583-1588.
- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603-608.
- Jiang, Z., Y. Akhtar, R. Bradbury, X. Zhang & M.B. Isman. 2009.** Comparative toxicity of essential oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and blends of their major constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *J. Agric. Food Chem.* 57: 4833-4837.
- Kerns, D.L. & M.J. Gaylor. 1992.** Insecticide resistance in field populations of the cotton aphid (Homoptera, Aphididae). *J. Econ. Entomol.* 85: 1-8.
- Kim, S., S. Chae, H. Youn, S. Yeon & Y. Ahn. 2011.** Contact and fumigant of plant essential oils and efficacy of spray formulations containing the oils against B- and Q-biotypes of *Bemisia tabaci*. *Pest Manag. Sci.* 67: 1093-1099.
- Kim, S. & Lee, D. 2014.** Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. *J. Asia-Pac. Entomol.* 17: 13-17.
- Kumral, N.A., S. Çobanoğlu & C. Yalcin. 2010.** Acaricidal, repellent and oviposition deterrent activities of *Datura stramonium* L. against adult *Tetranychus urticae* (Koch). *J. Pest Sci.* 83: 173-180.
- Laborda, R., I. Manzano, M. Gamón, I. Gavidia, P. Pérez-Bermúdez & R. Boluda. 2013.** Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Ind. Crop. Prod.* 48: 106-110.
- Lacerda, J.T. & Carvalho, R.A. 2008.** Descrição e manejo integrado da mosca-branca (*Bemisia* spp.) transmissora de geminivírus em culturas econômicas. *Tecnol. & Ciên. Agropec.* 2: 15-22.
- Lee, S., J. Yoo, S. Moon, S. Lee, C. Kim, S. Shin & G. Kim. 2003.** Fumigant and repellency effects of terpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Korean J. Appl. Entomol.* 42(3): 249-255.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit Logit analysis. Berkely.

- Lim, E., H. Lee & C.G. Park. 2011.** Fumigant activity of essential oils and their components from *Eucalyptus codonocarpa* and *E. dives* against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) at three temperatures. *J. Appl. Entomol.* 136(9): 698-703.
- Lima, A.C.S. & F.M. Lara. 2001.** Mosca-branca (*B. tabaci*): Morfologia, bioecologia e controle. Jaboticabal. 76p.
- Mahfuz, I. & M. Khalequzzaman. 2007.** Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. *Univ. J. Zool. Rajshahi Univ.* 26: 63-66.
- Melliou, E., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A.L. Skaltsounis & P. Magiatis. 2009.** High quality bergamot oil from Greece: chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against the west Nile virus vector. *Molecules.* 14: 839-849.
- Miresmailli, S., R. Bradbury & M.B. Isman. 2006.** Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Manag. Sci.* 62: 366–371.
- Moreira, M.D., M.C. Picanço, E.M. Silva, S.C. Moreno & J.C. Martins. 2005.** Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: Venzon, M.; Júnior, T.J.P.; Pallini, A. Controle alternativo de pragas e doenças. 89-120p.
- Norman Jr., D.G. Riley, P.A. Stansly, P.C. Ellsworth & N.C. Toscano. 1996.** Management of silverleaf whitefly: A comprehensive manual on the biology, economic impact and control tactics. Washington, USDA, 22p.
- Palácios, S.M., A. Bertoni, Y. Rossi, R. Santander & A. Urzúa. 2009.** Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. *Molecules.* 14: 1938-1947.
- Pontes W.J.T., J.C.S. Oliveira, C.A.G. Camara, A.C.H.R. Lopes, M.G.C. Godim-Júnior, J.V. Oliveira & M.O.E. Schwartz. 2007.** Composition and acaricidal activity of the resin's essential oil of *Protium bahianum* Daly against two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). *J. Essent. Oil Res.* 19: 379–383.
- Ramos, E.H.S., M.M. de Moraes, G.C.G. Militão, C.A.G. da Câmara, T.G. Silva. 2012.** Chemical composition and cytotoxic activity of sap essential oil from two *Mangifera indica* L. fruits varieties. In: 44th Brazilian congress of pharmacology and experimental therapeutics cell damage as a therapeutic Target, Foz do Iguaçu. Anais do 44th Brazilian congress of pharmacology and experimental therapeutics cell damage as a therapeutic target.
- Razmjou, J., H. Tavakkoli, & M. Nemati. 2009.** Life history traits of *Tetranychus urticae* Koch on three legumes (Acari: Tetranychidae). *Munis Entomol. Zoo.* 4(1): 204-211.

- Ribeiro, N.C., C.A.G. Câmara, F.S. Born & Siqueira, H.A. 2010.** Insecticidal activity against *Bemisia tabaci* biotype B of peel essential oil of *Citrus sinensis* var. pear and *Citrus aurantium* cultivated in northeast Brazil. *Nat. Prod. Commun.* 5(11): 1819-22.
- Robertson J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. CRC Press, California.
- Roh, H.S., E.G. Lim, J. Kim & C.G. Park. 2011.** Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *J. Pest Sci.* 84: 495–501.
- Roh, H.S., B.H. Lee & C.G. Park. 2013.** Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). *J. Asia-Pac. Entomol.* 16: 245-249.
- Rotimi J. & O.A. Ekperusi. 2012.** Effectiveness of citrus oils as cowpea seed protectant against damage by the Cowpea Bruchid *Callosobruchus maculatus* (F) (Coleopteran: Bruchidae). *Adv. Appl. Sci. Res.* 3(6): 3540-3544.
- SAS Institute. 2002.** SAS user's guide: statistics, ver. 9.0, 7th edn. SAS Institute, Cary.
- Siqueira, H.A.A., R.N.C. Guedes, M.C. Picanço. 2000.** Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepdoptera: Gelechiidae). *Agric. Forest Entomol.* 2: 147-153.
- Steinkraus, D., J. Zawislak, G. Lorenz, B. Layton & R. Leonard. 2003.** Spider mites on cotton in the mid-South. Cotton Inc., Arkansas University, pp. 8
- Van Den Dool, E. & P. Kratz. 1963.** A Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatography A*, Amsterdam, v. 11, pp. 463.
- Van Leeuwan, T., V. John, T. Anastásia, D. Wannes & T. Luc. 2010.** Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. *Ins. Biochem. Mol. Biol.* 40: 563-572.
- Yang, N., A. Li, F. Wah, W. Liu & D. Johnson. 2010.** Effects of plant essential oils on immature and adults sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. *Crop Prot.* 29: 1200-1207.

Tabela 1. Porcentagem dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das cascas das quatro espécies de *Citrus*.

Compostos	IR^a	IR^b	LT	LS	TM	TC
α -Tujeno	925	924	0,7	t	0,6	0,1
α -Pineno	933	932	3,9	0,8	3,2	2,1
α -Fencheno	941	945	t	4,0	-	-
Canfeno	954	946	t	0,3	-	-
Sabineno	970	969	-	-	1,1	2,6
β -Pineno	982	974	10,2	18,9	1,7	-
Mirceno	992	988	0,6	2,6	4,7	6,7
α -Felandreno	1003	1002	-	-	-	-
P-Menta-1 (7),8-dieno	1002	1003	-	-	4,2	0,7
δ -3-Careno	1008	1008	-	-	-	-
Limoneno	1021	1024	38,9	42,4	62,2	80,2
(E)- β -Ocimeno	1052	1044	-	-	-	-
γ -Terpineno	1065	1054	-	-	-	-
n-Octanol	1075	1063	-	-	-	-
ρ -Menta – 3,8-dieno	1066	1068	t	0,3	-	-
<i>trans</i> - Oxide de linalol	1080	1084	-	-	-	-
P-Menta –2,4(8) dieno	1070	1085	5,7	1,2	10,0	1,5
Terpinoleno	1093	1086	1,3	-	1,4	0,1
Linalol	1103	1095	3,1	0,1	4,5	3,7
exo-Fenchol	1118	1118	0,2	1,1	-	-

<i>Trans</i> - ρ -Menta-2,8dien-1-ol	1126	1119	-	-	t	-
<i>cis</i> - Oxide de Limoneno	1136	1132	0,5	0,3	t	-
<i>trans</i> - Oxide de Limoneno	1140	1137	0,7	-	-	-
(E)-Miroxide	1146	1140	0,5	0,6	-	-
<i>cis</i> - β -Terpineol	1146	1140	-	-	-	-
Citronelal	1155	1148	-	-	0,1	-
Oxide de β -pinene	1151	1154	-	1,4	-	-
iso-Mentona	1154	1158	-	-	0,3	0,1
Borneol	1168	1165	0,3	-	-	-
Terpinen-4-ol	1177	1174	2,7	2,3	0,8	0,3
α -Terpineol	1191	1186	5,2	2,9	1,1	0,3
n-Decanal	1206	1201	0,3	-	1,8	0,5
Citronelol	1229	1223	-	-	-	-
<i>cis</i> -Carveol	1225	1226	0,2	-	-	-
Nerol	1234	1227	0,7	0,4	0,2	-
Metil eter timol	1233	1232	-	-	0,3	-
Neral	1246	1235	2,5	0,3	-	-
Geranial	1261	1264	0,8	2,7	-	-
Perila aldeido	1276	1269	-	-	0,2	-
Neril Formate	1276	1280	2,8	2,7	-	-
Undecanal	1305	1305	-	-	0,1	-
Limoneno aldeido	1326	1326	0,3	-	-	-
δ -Elemeno	1336	1335	0,2	-	0,1	-

Acetate de citronelila	1351	1350	-	-	t	-
Acetate de nerila	1361	1359	3,4	0,4	t	-
α -Copaeno	1374	1374	-	-	t	0,1
Acetate de geranila	1382	1379	1,2	0,4	t	-
Dauceno	1425	1380	-	-	-	0,1
β -Cubebeno	1388	1387	-	-	-	T
β -Elemeno	1389	1389	-	-	t	-
Geranato de Etila	1396	1394	-	0,8	-	-
α -Barbateno	1409	1407	0,2	0,4	-	-
Dodecanal	1405	1408	-	-	0,4	-
A- <i>cis</i> -Bergamoteno	1414	1411	0,3	-	-	-
(E)-Cariofileno	1421	1417	1,2	0,3	-	-
β -Copaeno	1427	1430	-	-	-	-
α - <i>trans</i> -Bergamoteno	1437	1432	3,0	0,3	-	-
α -Guaieno	1436	1437	-	1,2	-	-
(E)- β -Farneseno	1453	1454	0,5	3,0	0,1	-
β -Santaleno	1457	1457	0,2	-	-	-
Cumacreno	1490	1470	-	-	-	T
γ -Gurjuneno	1478	1475	-	-	-	-
Propanoato de geranila	1481	1476	0,4	0,4	-	-
γ -Muuroleno	1477	1478	-	-	0,2	0,1
(Z)-diidro-Apofarnesal	1497	1498	0,4	0,3	-	-
(E,E)- α -Farneseno	1502	1505	-	-	0,1	0,2

β -Bisaboleno	1510	1505	4,3	-	-	T
Germacreno A	1545	1508	-	-	-	T
B-Sesquifelandreno	1525	1521	-	4,2	-	-
δ -Cadinene	1529	1522	-	-	0,1	0,1
Germacreno B	1554	1559	-	-	0,2	-
Oxido de cariofileno	1583	1582	0,7	-	-	-
Humuleno epoxido II	1606	1608	0,2	1,4	-	-
Selin-11-en-4- α -ol	1653	1658	0,2	-	-	-
epi- β -Bisabolol	1666	1670	0,3	-	-	-
epi- α -Bisabolol	1682	1683	0,4	-	-	-
<i>Monoterpenos</i>			61,3	61,8	89,1	94,0
<i>Monoterpenos oxigenados</i>			25,9	25,8	7,2	4,4
<i>Sesquiterpenos</i>			9,9	9,4	0,8	0,6
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>			1,8	1,4	-	-
<i>Derivados de ácidos graxos</i>			0,3	-	2,3	0,5
<i>Benzenóides</i>			-	-	0,3	-
Total Identificados			99,2	98,4	99,7	99,5
Total Não Identificados			0,08	1,60	0,03	0,05

^aÍndice de retenção calculado pela co-injeção de uma série homóloga de n-alcanos.

^bÍndice de retenção obtido na literatura. *Citrus aurantifolia* (Limão taiti - LT), *C. limon* (Limão siciliano - LS), *C. sinensis* x *C. reticulata* (Tangerina murcot - TM), *C. reticulata* (Tangerina cravo - TC).

Tabela 2. Rendimento dos óleos essenciais das cascas das espécies de *Citrus* e do látex das variedades de *Mangifera indica* e percentagem dos compostos químicos presentes nos óleos essenciais.

	LT	LS	TM	TC	MR	ME
Rendimentos (%)	0,49	0,85	1,37	2,04	9,50	5,60
Constituintes	%					
<i>p</i> -cimeno	-	-	-	-	0,3	0,4
Linalol	3,1	0,1	4,5	3,7	-	-
α -terpineol	5,2	2,9	1,1	0,3	-	-
α -pineno	3,9	0,8	3,2	2,1	11,5	0,8
β -pineno	-	-	-	-	40,7	1,9
Terpinoleno	-	-	-	-	28,3	73,6
Limoneno	38,9	42,4	62,2	80,2	1,3	1,4

Citrus aurantifolia (Limão taiti - LT), *C. limon* (Limão siciliano - LS), *C. sinensis* x *C. reticulata* (Tangerina murcot – TM), *C. reticulata* (Tangerina cravo - TC), e *Mangifera indica* var. Rosa (MR) e var. Espada (ME).

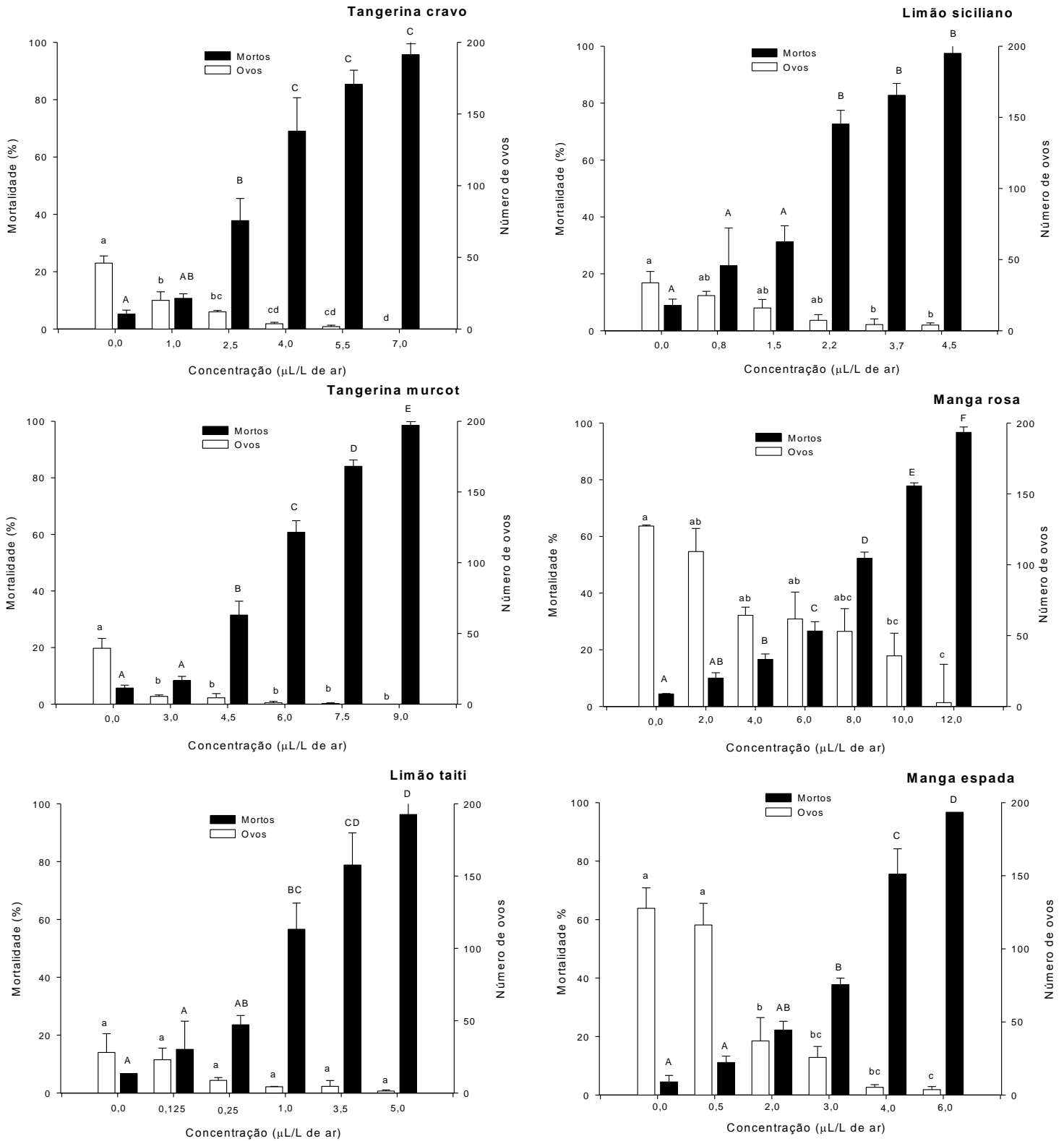


Figura 1. Mortalidade e oviposição de adultos de *Bemisia tabaci* após a exposição dos óleos essenciais de *Citrus reticulata* - Tangerina cravo, *C. sinensis* x *C. reticulata* - Tangerina murcot, *C. aurantifolia* - Limão taiti, *C. limon* - Limão siciliano, *Mangifera indica* var. rosa e *M. indica* var. espada em diferentes concentrações.

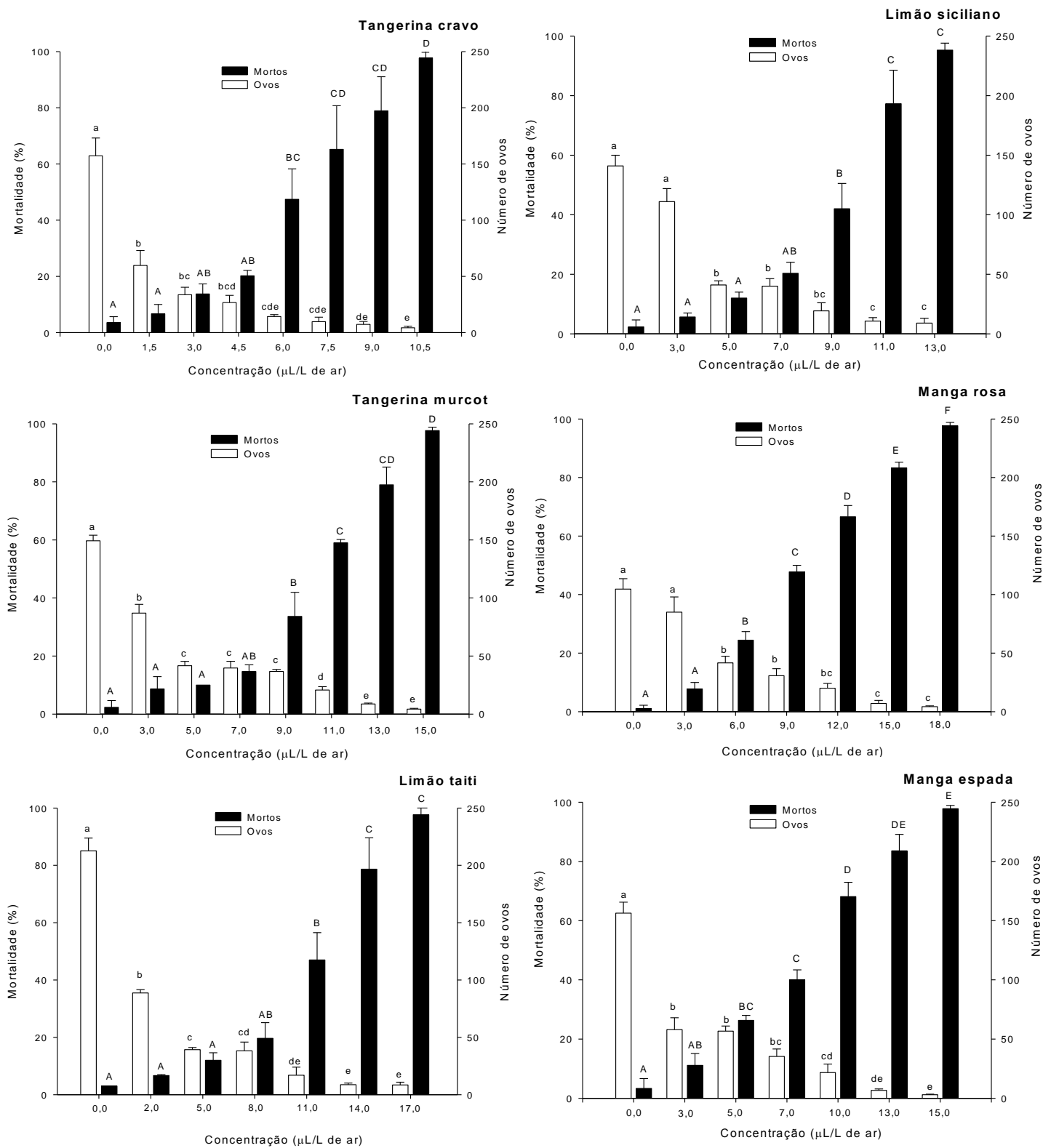


Figura 2. Mortalidade e oviposição de adultos de *Tetranychus urticae* após a exposição dos óleos essenciais de *Citrus reticulata* - Tangerina cravo, *C. sinensis* x *C. reticulata* - Tangerina murcot, *C. aurantifolia* - Limão taiti, *C. limon* - Limão siciliano, *Mangifera indica* var. rosa e *M. indica* var. espada em diferentes concentrações.

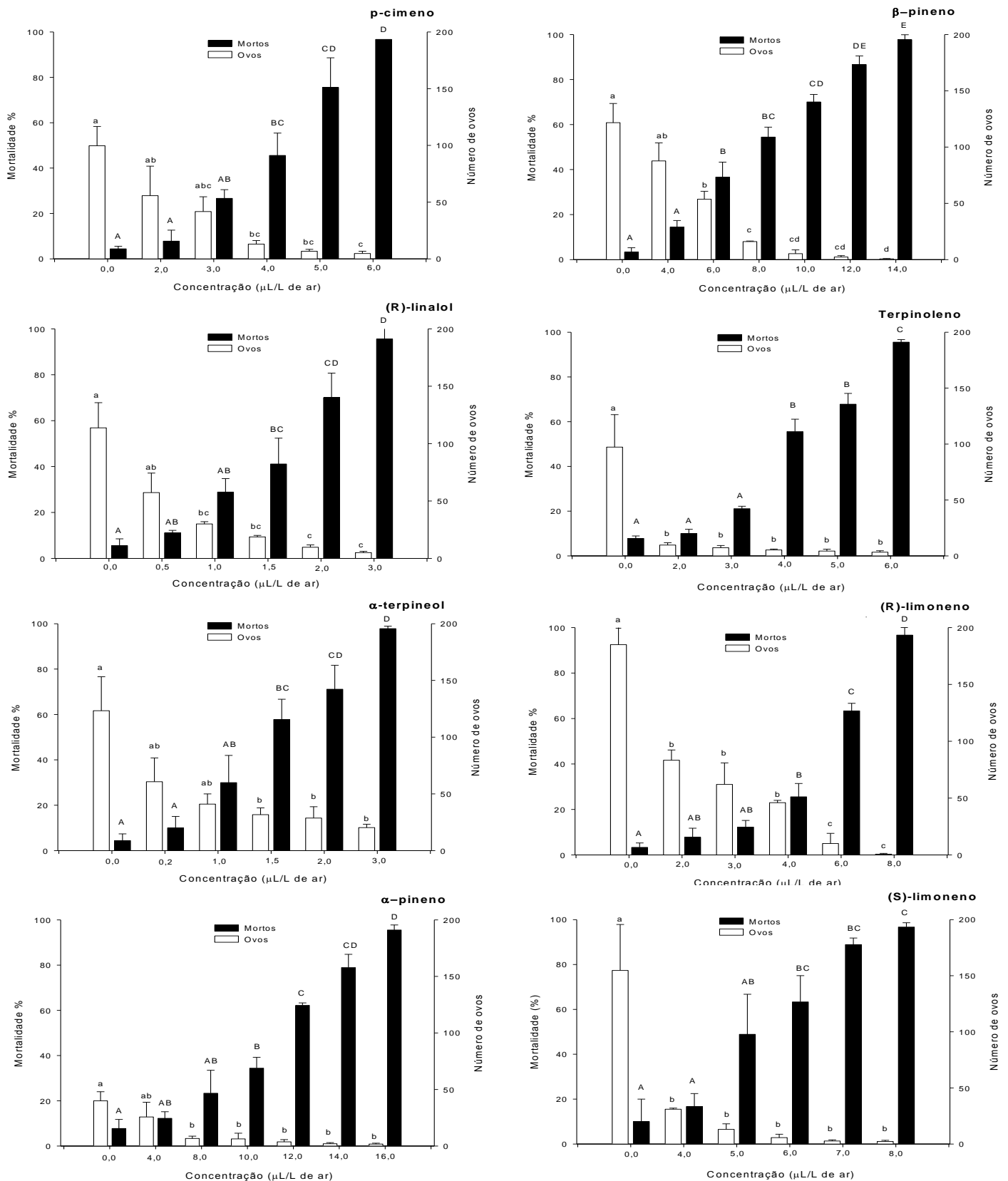


Figura 3. Mortalidade e oviposição de *Bemisia tabaci* após a exposição dos compostos químicos p-cimeno, (R)-linalol, α-terpineol, α-pineno, β-pineno, terpinoleno, (R)-limoneno, (S)-limoneno, em diferentes concentrações.

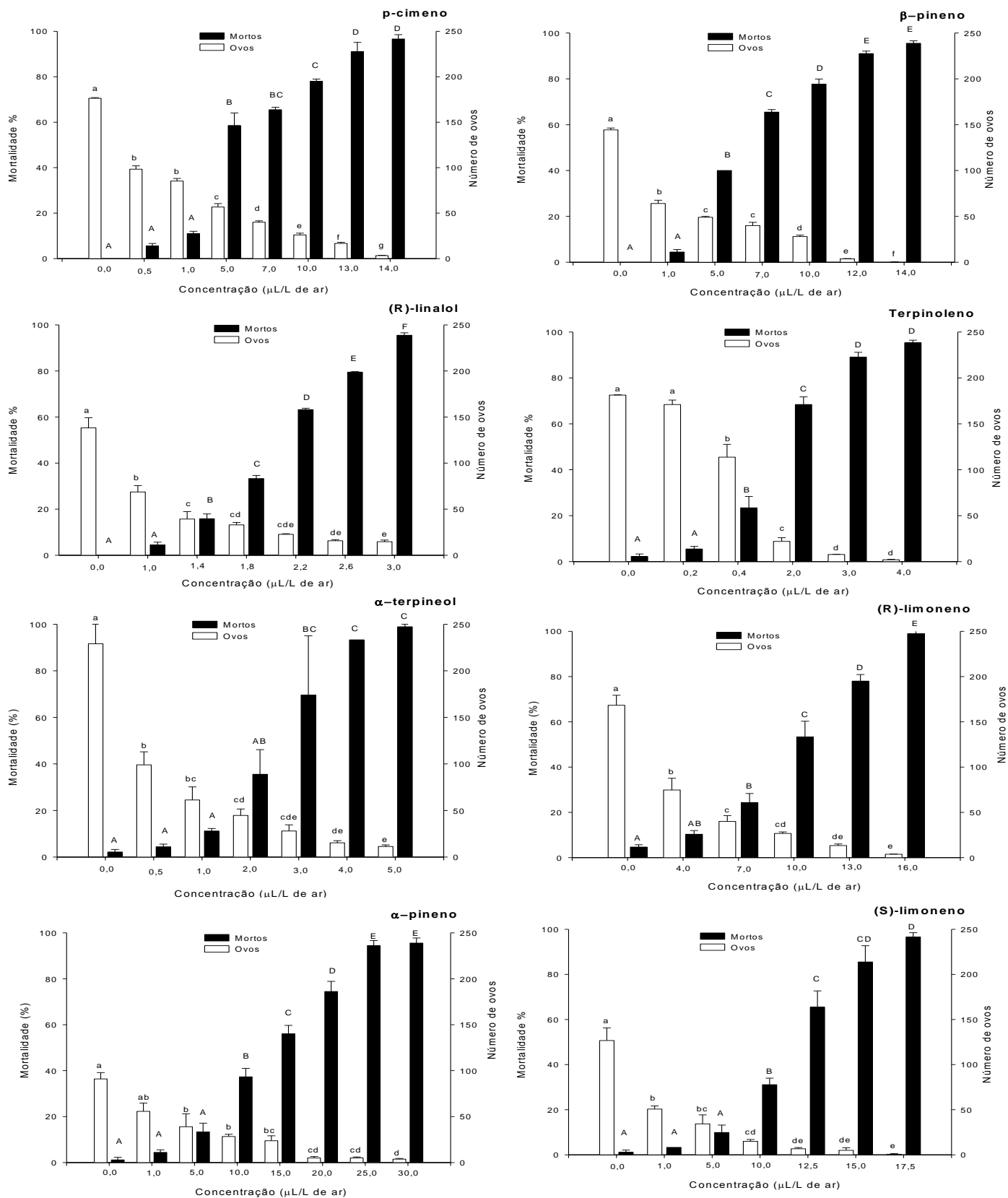


Figura 4. Mortalidade e oviposição de *Tetranychus urticae* após a exposição dos compostos químicos p-cimeno, (R)-linalol, α-terpineol, α-pineno, β-pineno, terpinoleno, (R)-limoneno, (S)-limoneno, em diferentes concentrações.

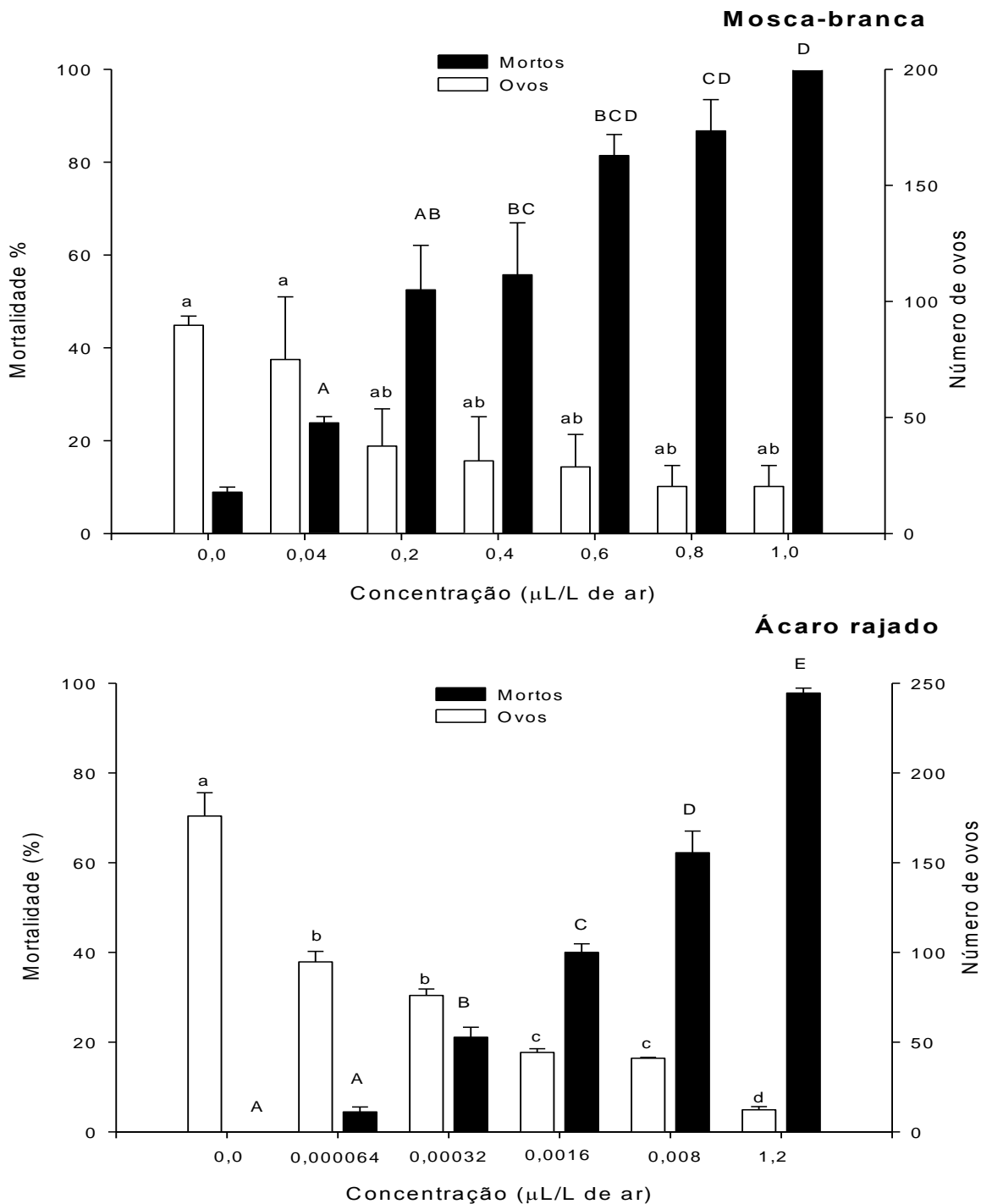


Figura 5. Mortalidade e oviposição de adultos de mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) após exposição ao óleo essencial eugenol, controle positivo, em diferentes concentrações.

Tabela 3. Ação fumigante dos óleos essenciais do gênero *Citrus*, da espécie *Mangifera indica*, dos seus compostos selecionados e do controle positivo (Eugenol) sobre casais de *Bemisia tabaci* biótipo B.

Óleos essenciais	N	GL	Inclinação±EP	Cl ₅₀ μL/L de ar (IC) 95%	χ ²	RT ₅₀
Eugenol	495	4	1,96±0,32	0,20 (0,02-0,34)	9,37	-
Tangerina cravo	388	3	4,26±0,85	3,04 (2,22-3,59)	2,19	14,8* (3,4-63,3)
Tangerina murcot	452	3	7,62±1,16	5,39 (3,99-6,10)	3,80	26,2* (6,7-102,9)
Limão taiti	305	3	1,75±0,28	0,70 (0,13-1,43)	3,40	3,4 (1,0-11,3)
Limão siciliano	322	3	3,87±0,69	1,77 (0,63-2,44)	4,18	8,6* (2,5-29,3)
Manga rosa	630	4	8,08±1,14	7,95 (6,08-8,91)	9,30	38,7* (9,9-150,7)
Manga espada	540	3	6,36±0,81	3,27 (2,25-3,93)	7,40	15,9* (4,8-52,8)
Compostos						
ρ-cimeno	540	3	7,85±0,96	4,00 (3,05-4,55)	7,19	19,5* (5,8-65,3)
(R)-linalol	540	3	5,06±0,69	1,60 (0,97-1,99)	7,42	7,7* (2,2-26,8)
α-terpineol	540	3	4,93±0,57	1,43 (1,05-1,73)	6,35	7,0* (2,4-20,2)
α-pineno	630	4	9,20±1,13	11,37 (10,16-12,22)	5,15	55,4* (15,1-203,8)
β-pineno	630	4	5,19±0,50	7,40 (6,17-8,37)	6,71	36,0* (11,0-118,1)
terpinoleno	540	3	8,36±1,06	4,21 (3,38-4,73)	5,95	20,5* (6,0-70,1)
(R)-limoneno	540	3	7,63±0,97	5,19 (3,89-6,02)	6,55	25,2* (7,2-88,7)
(S)-limoneno	540	3	9,91±1,02	5,41 (4,81±5,86)	3,90	26,3* (8,1±86,0)

N= número de indivíduos; GL= Graus de liberdade; EP= Erro padrão; CL= Concentração letal; IC= Intervalo de confiança; χ²= Quiquadrado; RT= Razão de toxicidade.

RT calculado pelo método de Robertson & Preisler; Eugenol=Controle positivo.

*Significativo quando não apresenta 1.

Tabela 4. Ação fumigante dos óleos essenciais do gênero *Citrus*, da espécie *Mangifera indica*, dos seus compostos selecionados e do controle positivo (Eugenol) sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Óleos essenciais	N	GL	Inclinação± EP	Cl ₅₀ μL/L de ar (IC) 95%	χ ²	RT ₅₀
Eugenol	640	3	0,85±0,076	0,004 (0,002-0,005)	1,52	-
Tangerina cravo	690	5	5,67±0,654	6,09 (4,97-6,90)	10,9	1728,8* (234,7-12733,1)
Tangerina murcot	717	5	9,35±1,04	10,39 (9,32-11,19)	9,2	2948,4* (395,6-21969,8)
Limão taiti	602	4	8,85±1,10	11,24 (9,44-12,42)	8,11	3187,1* (413,1-24588,3)
Limão siciliano	621	4	10,20±1,28	9,34 (7,99-10,19)	8,86	2650,1* (344,3-20396,8)
Manga rosa	626	4	4,68±0,62	9,13 (6,11-10,78)	9,36	2588,9* (328,6-20395,6)
Manga espada	633	4	4,71±0,56	7,72 (5,41-9,18)	9,08	2191,2* (288,9-16619,2)
Compostos						
ρ-cimeno	720	5	2,11±0,14	3,69 (2,76-4,70)	9,83	1046,6* (155,3-7050,6)
(R)-linalol	617	4	7,01±0,52	1,94 (1,79-2,11)	6,92	552,4* (83,7-3646,2)
α-terpineol	633	4	6,08±0,87	2,39 (1,64-2,76)	7,81	678,1* (94,1-4884,2)
α-pineno	722	5	3,91±0,38	12,46 (9,56-14,77)	11,04	3535,7* (486,2-25711,0)
β-pineno	630	4	2,95±0,25	4,92 (3,49-6,16)	9,16	1396,6* (200,7-9717,5)
terpinoleno	535	3	2,17±0,18	1,07 (0,61-1,62)	6,92	305,5* (46,7-1998,8)
(R)-limoneno	529	3	7,35±0,88	9,80 (7,05-11,39)	7,60	2779,3* (364,7-21179,5)
(S)-limoneno	630	4	9,53±1,05	11,52 (10,05±12,53)	8,62	3269,0* (439,1±24333,1)

N= número de indivíduos; GL= Graus de liberdade; EP= Erro padrão; CL= Concentração letal; IC= Intervalo de confiança; χ²= Quiquadrado; RT= Razão de toxicidade.

RT calculado pelo método de Robertson & Preisler; Eugenol=Controle positivo.

*Significativo quando não apresenta 1.

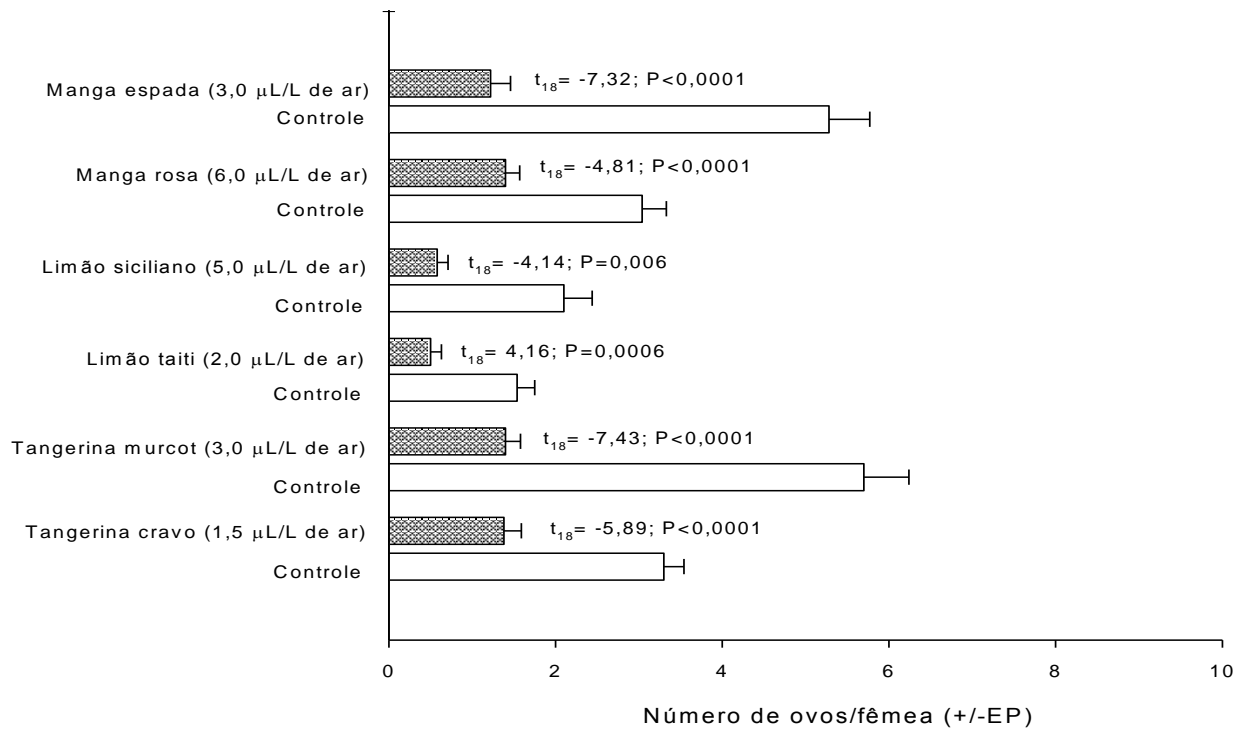


Figura 6. Número de ovos/fêmea de *Tetranychus urticae* após a exposição da menor concentração do óleo essencial que reduziu a oviposição quando comparado ao controle no teste de fumigação.

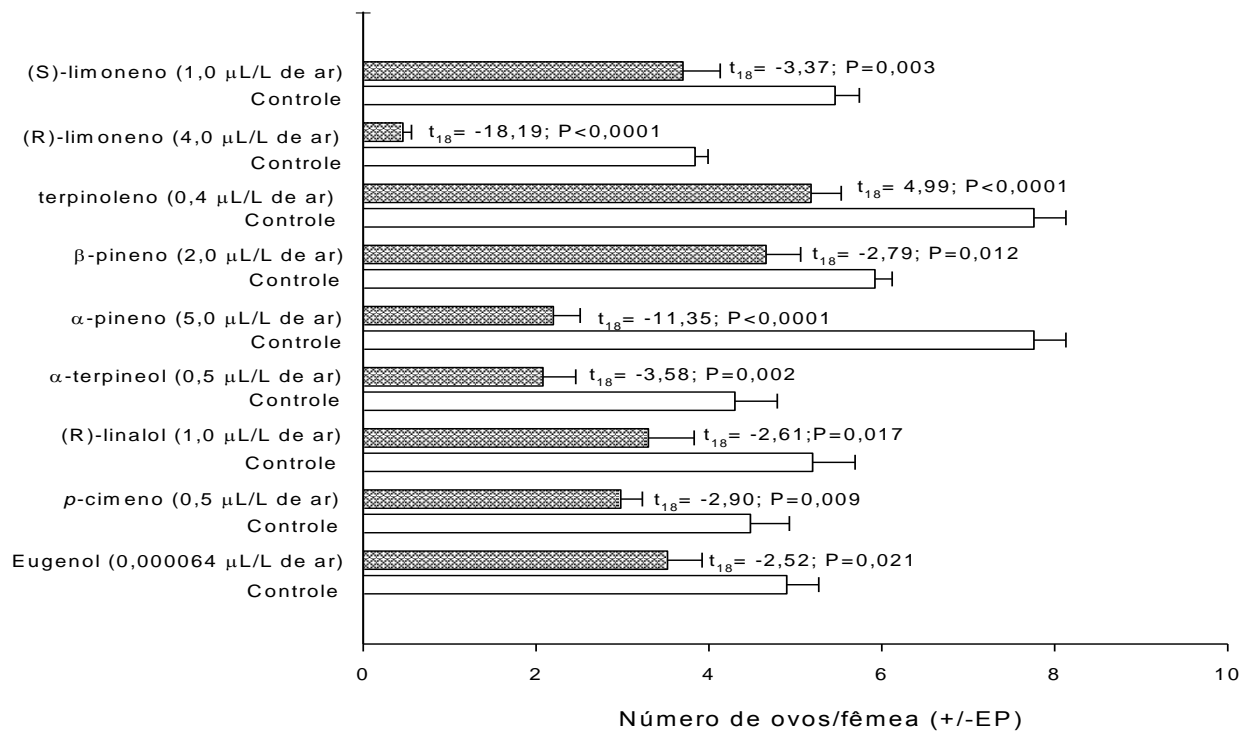


Figura 7. Número de ovos/fêmea de *Tetranychus urticae* após a exposição da menor concentração do composto químico que reduziu a oviposição quando comparado ao controle no teste de fumigação.

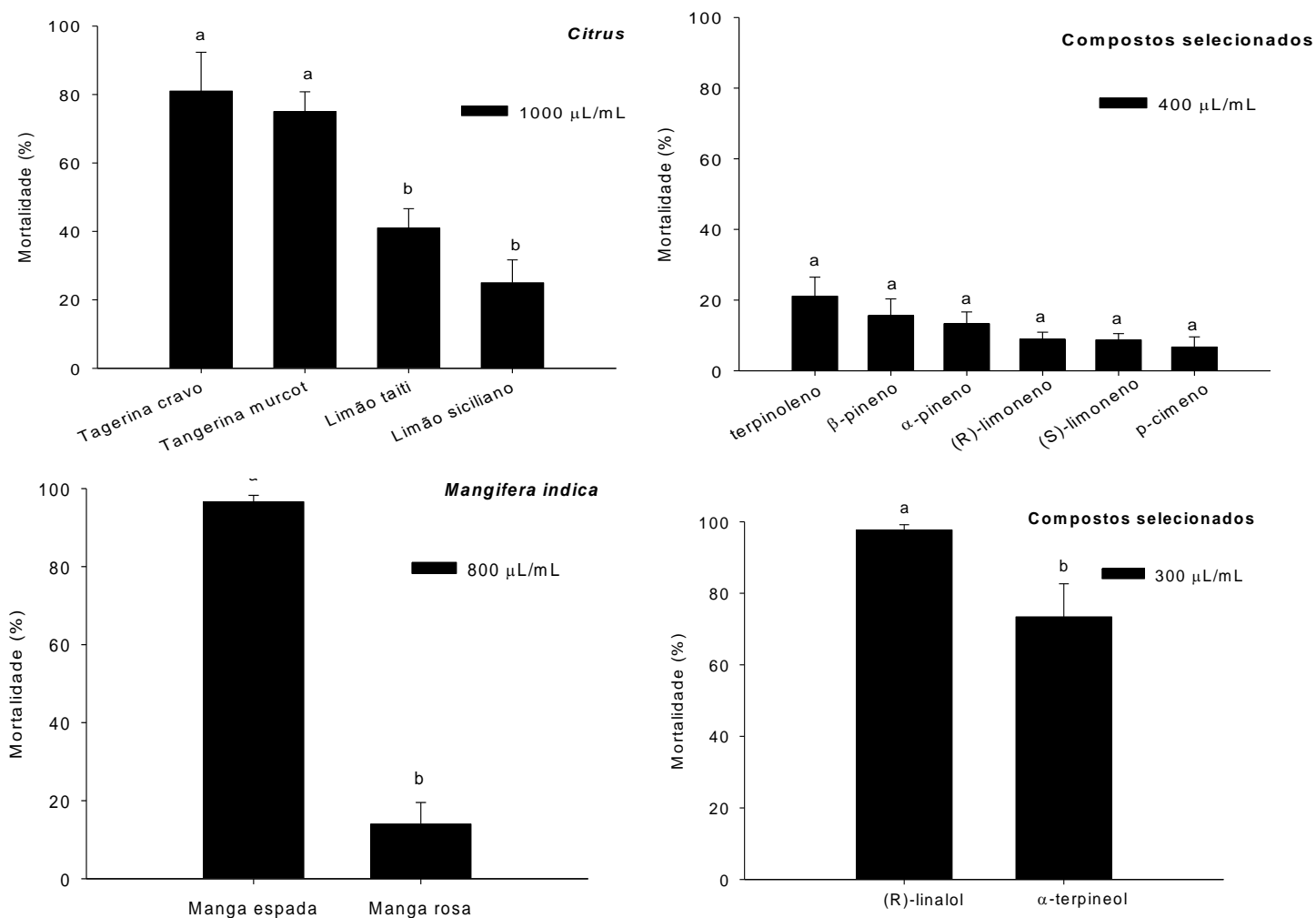


Figura 8. Mortalidade média (\pm EP) de *Tetranychus urticae* após bioensaio de contato residual, nas maiores concentrações testadas, para as espécies do gênero *Citrus* - (1000 μ L/mL), *Mangifera indica* - (800 μ L/mL), para os compostos selecionados: p-cimeno, (R)-limoneno, (S)-limoneno, α -pineno, β -pineno, terpinoleno - (400 μ L/mL) e α -terpineol, (R)-linalol - (300 μ L/mL).

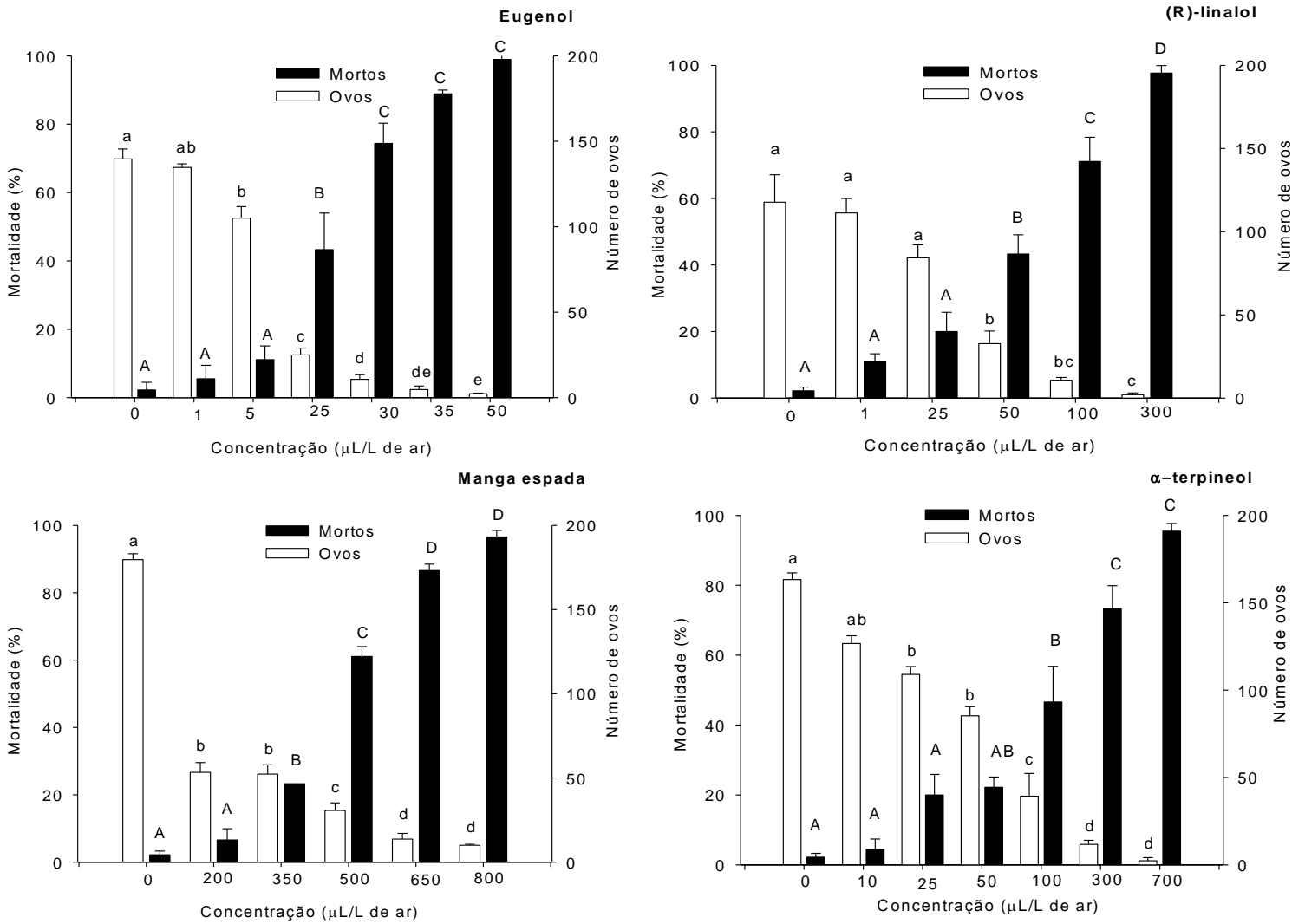


Figura 9. Mortalidade e oviposição de adultos de *Tetranychus urticae* após contato residual do controle positivo, Eugenol, do óleo essencial de *Mangifera indica* var. espada e dos compostos (R)-linalol e α -terpineol em diferentes concentrações.

CAPÍTULO 3

TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAULE, INFLORESCÊNCIA E FOLHA DE *Piper marginatum* JACQ. E SEUS CONSTITUENTES MAJORITÁRIOS SOBRE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) E *Neoseiulus californicus* (MCGREGOR) (ACARI: PHYTOSEIIDAE)¹

NICOLLE DE C. RIBEIRO² & CLÁUDIO A.G. DA CÂMARA³

²Departamento de Agronomia, Área Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, Pernambuco, Brasil.

³Departamento de Ciências Moleculares, Área Tecnologia Ambiental, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, Pernambuco, Brasil.

¹Ribeiro, N.C.; C.A.G. da Câmara. Toxicidade do óleo essencial de caule, inflorescência e folha de *Piper marginatum* Jacq. e seus constituintes majoritários sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Neoseiulus californicus* (Mcgregor) (Acari: Phytoseiidae). A ser submetido.

RESUMO – Óleos essenciais do caule, inflorescência e folha de *Piper marginatum* foram avaliados em laboratório quanto ao potencial acaricida sobre *Tetranychus urticae* e os dados comparados com o controle positivo. Esses óleos também foram avaliados quanto a susceptibilidade do inimigo natural, *Neoseiulus californicus*. De acordo com as CL₅₀ estimadas, o óleo do caule e inflorescência apresentou o mesmo nível de toxicidade e diferiram significativamente do óleo da folha. Nenhum dos óleos testados apresentou toxicidade maior ou no mesmo nível do controle positivo. *T. urticae* foi mais susceptível do que o *N. californicus* para todos os óleos testados. Os óleos de *Piper*, além de atuarem na toxicidade também promoveram deterrência de oviposição. Entre os constituintes químicos testados, os sesquiterpenos foram os mais tóxicos do que os fenilpropanóides e β -cariofileno apresentou a maior toxicidade, enquanto que o ácaro foi mais susceptível aos fenilpropanóides (E) e (Z)-asarone. A propriedade acaricida desses óleos, associada à deterrência de oviposição e somada à sua seletividade ao inimigo natural, *N. californicus*, o torna um forte candidato para ser usado como princípio ativo na formulação de um acaricida natural.

PALAVRAS-CHAVE: Piperaceae, fenilpropanóides, sesquiterpenos, atividade acaricida, ácaro rajado, ácaro predador

TOXICITY OF ESSENTIAL OILS OF THE STEM, INFLORESCENCE, LEAF AND ITS
MAJOR CONSTITUENTS FROM *Piper marginatum* JACQ. AGAINST *Tetranychus urticae*
KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) AND *Neoseiulus californicus* (MCGREGOR)
(ACARI: PHYTOSEIIDAE)

ABSTRACT – Essential oils from the stems, flowers and leaves of the marigold pepper (*Piper marginatum*) were evaluated in the laboratory regarding their acaricidal potential against the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) and the data were compared to the positive control (eugenol). The oils were also evaluated with regard to the susceptibility of the natural enemy of *T. urticae* (*Neoseiulus californicus*). Based on LC₅₀ estimates, the oils from the stems and flowers exhibited the same toxicity and differed significantly from the leaf oil. None of the oils tested exhibited toxicity greater than or equal to that of the positive control. *T. urticae* was more susceptible than *N. californicus* to all oils tested. The marigold pepper oils also deterred oviposition. Among the chemical constituents tested, sesquiterpenes were more toxic than phenylpropanoids. β -carophyllene exhibited the greatest degree of toxicity and the mite was more susceptible to the phenylpropanoids (E) and (Z)-asarone. The acaricidal properties, oviposition deterrence and selectivity make these oils strong candidates for use as the active ingredient in a plant-based acaricidal agent.

KEY WORDS: Piperaceae, phenylpropanoids, sesquiterpenes, acaricidal activity, two spotted spider mite, predator mite

Introdução

Na família Tetranychidae, diversas espécies de ácaros são consideradas pragas, sendo a mais importante *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), também chamado de ácaro rajado (Alzoubi & Cobanoglu 2008). *T. urticae* é cosmopolita e alimenta-se de mais de 1100 espécies de plantas (Grbic *et al.* 2011), dentre elas as culturas agrícolas de tomate, pepino, melão, morango, milho, soja, maçã, uva e citros (Gerson & Weintraub 2012). Nas folhas, o ácaro rajado provoca manchas cloróticas, que reduzem a capacidade fotossintética (Steinkraus *et al.* 2003). Posteriormente, estas folhas necrosam, secam e caem, tendo como consequência a redução do crescimento vegetativo e da produção. (Fiedler 2012).

O controle do ácaro rajado é principalmente realizado por meio da aplicação de pesticidas sintéticos. Entretanto, são diversos os problemas advindos do uso inadequado destes pesticidas como: intoxicação, contaminação ambiental, eliminação de inimigos naturais e polinizadores (Motazedian *et al.* 2012), além do surgimento de populações resistentes aos acaricidas (Croft 1990). Assim, visando à redução desses efeitos negativos, métodos alternativos para o controle do ácaro rajado vêm sendo testados, dentre eles o uso de óleos essenciais extraídos de plantas (Motazedian *et al.* 2012).

Pesquisas com óleos essenciais de plantas pertencentes a família Piperaceae, gênero *Piper* são pouco desenvolvidas. Essas plantas são amplamente distribuídas no Estado de Pernambuco, e apresentam acúmulo de metabólitos secundários, como, fenilpropanóides, lignanas, amidas e alcalóides usados na defesa contra a herbivoria (Scott *et al.* 2008). Investigação prévia para plantas do gênero *Piper* foi encontrada para propriedades inseticidas sobre *Aedes aegypti* (Autran *et al.* 2009), *Solenopsis saevissima* (Souto *et al.* 2012), *Tenebrio molitor* (Fazolin *et al.* 2007), *Sitophilus zeamais* (Estrela *et al.* 2006, Coitinho *et al.* 2011) e para propriedade acaricida sobre *T. urticae* (Araújo *et al.* 2012), além de ácaros de produtos armazenados, *Tyrophagus putrescentiae*

e *Suidasia pontifica* (Assis *et al.* 2011). Contudo, nenhum estudo relacionado com a ação acaricida do óleo essencial de *Piper marginatum* sobre *T. urticae*.

Para um controle adequado de *T. urticae*, além do emprego de óleos essenciais é importante a utilização de outros métodos de controle, como por exemplo, o biológico. Ácaros predadores da família Phytoseiidae são extensivamente utilizados para o controle de ácaros-praga em vários países, incluindo o Brasil (Fraulo & Liburd 2007). O ácaro generalista, *Neoseiulus californicus* (McGregor), predador de *T. urticae*, encontra-se em várias regiões do Brasil, é facilmente criado em laboratório, apresenta grande habilidade de sobreviver em baixa densidade de presas e tolera altas temperaturas (Toldi, *et al.* 2013). Por estas características, *N. californicus* apresenta grande potencial para ser utilizado no controle de *T. urticae* em diversas regiões do Brasil (Ferla *et al.* 2007).

Um dos requisitos para o uso de um acaricida alternativo aos pesticidas convencionais, além de não contaminar o ecossistema e baixa toxicidade aos mamíferos é sua seletividade à pragas não alvo. Sendo assim, os óleos essenciais foram avaliados quanto à seletividade ao inimigo natural do ácaro rajado, *N. californicus*. A utilização concomitante de óleos essenciais e do ácaro predador pode ser uma estratégia importante para o controle do ácaro rajado se houver compatibilidade entre esses métodos.

Como parte de nossa investigação sobre a propriedade acaricida de óleos essenciais de plantas aromáticas que ocorrem nos fragmentos de Mata Atlântica em Pernambuco – Brasil, a propriedade do óleo essencial de *P. marginatum* foi avaliada em laboratório e comparada com o eugenol, como controle positivo. Este trabalho teve como objetivo avaliar a ação tóxica e de deterrência de oviposição dos vapores do óleo essencial do caule, inflorescência e folha de *P. marginatum* sobre *T. urticae* e comparada com a seletividade para o predador *N. californicus*. A

toxicidade relativa dos constituintes sesquiterpênicos, β -cariofileno, patchoulol e fenilpropanóides, isômeros (Z) e (E)-asarone são discutidos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Ciências Moleculares no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, no Departamento de Agronomia nos Laboratórios de Biologia de Insetos e Inseticidas Naturais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Material Vegetal. Caule, inflorescência e folha foram coletados de plantas da espécie *P. marginatum* no campus da UFRPE em um fragmento de Mata Atlântica, no município de Recife, em dezembro de 2011. O material vegetal foi identificado pela Dra. Margareth F. de Sales do Departamento de Biologia da UFRPE e uma excisada da planta foi registrada sob o número 48210 e depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE.

Obtenção dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais foram obtidos pela técnica de hidrodestilação a partir do caule, inflorescência e folha de *P. marginatum* por duas horas em aparelho de tipo Clevenger. Os óleos foram separados por diferença de densidade da água, secos em sulfato de sódio anidro, estocados em vidros âmbar hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração a +5°C antes de serem utilizados nos bioensaios. O rendimento dos óleos foi expresso em percentagem (g/100g do material vegetal fresco).

Compostos Químicos. Para seleção dos compostos quirais (R) ou (S), além do preço e disponibilidade no comércio, levou-se em consideração o estereoisômero mais abundante em óleos essenciais (Melliou *et al.* 2009, Palácios *et al.* 2009). A partir da investigação prévia da composição química desses óleos realizada por Autran *et al.* (2009), os constituintes químicos majoritários: (Z)-asarone, (E)-asarone, β -cariofileno, patchoulol e eugenol, usados como controle positivo, foram adquiridos pela Sigma - Aldrich - Brasil.

Criação de *Tetranychus urticae*. A população de *T. urticae* foi adquirida do Laboratório de Acarologia Agrícola da UFRPE. A criação foi estabelecida sobre plantas de feijão-de-porco, (*Canavalia ensiformes* L.) que frequentemente foram cultivadas em vasos com capacidade de 5 L contendo terra misturada com húmus (3:1). No Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE, para manutenção da criação, plantas com 25 dias de idade foram infestadas com ovos, larvas, ninfas e adultos do ácaro rajado. A criação estoque não foi exposta aos acaricidas e foi mantida sob a temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 65 ± 5 % e 12 h fotofase.

Criação de *Neoseiulus californicus*. A população do ácaro predador *N. californicus*, oriunda do Município de Bonito, Pernambuco, foi obtida do Laboratório de Acarologia Agrícola da UFRPE. A criação do ácaro predador foi adaptada da metodologia estabelecida por Monteiro (2002). Os ácaros foram criados em arenas plásticas mantidas em B.O.D. sob temperatura média de 27°C e 12 h de fotofase. Cada arena foi confeccionada com um disco de espuma de polietileno umedecido com água destilada. Um disco de papel de filtro foi colocado sobre uma espuma onde foi mantida uma folha de *C. ensiformes* (feijão-de-porco) com a margem circundada por algodão umedecido para evitar a fuga dos ácaros. A fim de estimular a oviposição foram colocadas fibras de algodão sobre as folhas de feijão-de-porco. A cada dois dias foram oferecidos como alimento *T. urticae* e pólen de mamona *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae). A criação estoque não foi exposta aos acaricidas.

Bioensaio de Toxicidade com *T. urticae*. Os bioensaios foram realizados sob a temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 65 ± 5 % e 12 h fotofase. O método de fumigação usado nos experimentos foi adaptado ao estabelecido por Pontes *et al.* (2007). Aos 25 a 40 dias após a emergência das plantas de feijão-de-porco foram coletadas as folhas mais desenvolvidas, das quais discos foram cortados, com o auxílio de um vazador de metal cilíndrico de 2,5 cm de diâmetro. Em seguida, três discos foliares foram inseridos equidistantes em uma placa de Petri (9

cm de diâmetro) contendo um disco de papel de filtro (8,5 cm de diâmetro) saturado com água, para evitar a fuga dos ácaros e manter a turgidez das folhas. Cada disco foliar foi infestado com 10 fêmeas adultas do ácaro rajado, totalizando 30 ácaros por placa de Petri. Posteriormente a placa foi acondicionada em recipiente de vidro com tampa, de capacidade de 1 L utilizado como câmara de fumigação. Os óleos essenciais foram aplicados com auxílio de um pipetador automático em tiras de papéis de filtro de 5 x 2cm, estes posteriormente presos à superfície interna da tampa da câmara de fumigação.

Testes preliminares foram necessários para a determinação das concentrações dos óleos e dos compostos. As concentrações dos óleos de *P. marginatum* variaram de acordo com a parte da planta que se extraiu o óleo essencial, sendo assim, utilizaram-se concentrações de 0,005; 0,2; 0,3; 0,5 e 0,8 µL/L para o caule, posteriormente 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 µL/L para a inflorescência e 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0 µL/L para a folha. Quanto aos compostos, as concentrações testadas foram 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5 µL/L de ar (Z-asarone), 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0 e 14,0 µL/L de ar (E-asarone), 0,2; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0 µL/L de ar (β-cariofileno), 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5 µL/L de ar (patchoulol) e 0,000064; 0,00032; 0,0016; 0,008 e 1,2 µL/L de ar (eugenol). O tratamento controle foi isento de aplicação. Logo que aplicado o óleo/composto, a câmara de fumigação foi tampada e vedada com filme plástico PVC®. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três replicatas, totalizando três repetições. Transcorrido o período de exposição de 24 h do ácaro rajado ao óleo essencial, iniciaram-se as avaliações. Assim, foi verificada a mortalidade, considerando o indivíduo morto, quando ao ser tocado levemente por um pincel com cerdas finas, era incapaz de se deslocar por uma distância superior ao comprimento do seu corpo. Além disso, foi contabilizado o número de ovos referente a cada concentração testada.

Bioensaio de Deterrência para Oviposição de *T. urticae*. A fim de avaliar o efeito deterrente de oviposição dos vapores dos óleos essenciais de espécies de *P. marginatum* sobre *T. urticae* foram

realizados bioensaios, a temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 65 ± 5 % e 12 h fotofase, utilizando a metodologia adaptada de Pontes *et al.* (2007). Cinco discos de folha de feijão-de-porco (1,5 cm) foram colocados equidistantes em uma placa de Petri (10 cm) contendo um disco de papel de filtro saturado com água. Cada disco foliar foi infestado com uma fêmea adulta do ácaro rajado, totalizando cinco fêmeas por placa de Petri, que foi posteriormente, acondicionada em câmara de fumigação. Os óleos essenciais e os compostos químicos foram aplicados com o auxílio de pipeta automática em tiras de papel de filtro (10 x 2 cm) presas à superfície interna da tampa da câmara de fumigação. Utilizou-se a menor concentração do óleo essencial e do composto, referente ao teste de fumigação, que reduziu a oviposição em comparação estatística com o controle.

As concentrações utilizadas dos óleos de *P. marginatum* extraídos do caule, inflorescência e folhas, foram de 0,005; 0,2 e 1,0 µL/L de ar, respectivamente. Para o eugenol a concentração utilizada foi de 0,000064 µL/L de ar, enquanto para os compostos de β-cariofileno, patchoulol, (Z)-asarone e (E)-asarone foram de 0,2; 2,5; 5,0 e 8,0 µL/L de ar, respectivamente. O tratamento controle foi isento de aplicação. Logo que aplicado o óleo/composto, a câmara de fumigação foi tampada e vedada com filme plástico PVC®. O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco replicatas, totalizando dez repetições. Após 24h verificou-se o número de ovos do tratamento e do controle.

Bioensaio Toxicidade com *N. californicus*. O método de fumigação usado nos experimentos foi adaptado ao estabelecido por Pontes *et al.* (2007), sendo os bioensaios realizados sob a temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 65 ± 5 % e 12 h fotofase. Aos 25 a 40 dias após a emergência das plantas de feijão-de-porco foram coletadas as folhas mais desenvolvidas, das quais discos foram cortados, com o auxílio de um vazador de metal cilíndrico de 2,5 cm de diâmetro. Em seguida, três discos foliares foram inseridos equidistantes em uma placa de Petri (9

cm de diâmetro) contendo um disco de papel de filtro (8,5 cm de diâmetro) saturados com água. Cada disco foliar foi infestado com 10 ácaros predadores, totalizando 30 ácaros por placa de Petri. Para a alimentação dos predadores, foram oferecidos como alimento cerca de 15 ácaros rajado e pólen de mamona, para cada disco foliar. Em seguida, a placa de Petri foi acondicionada na câmara de fumigação. Os óleos essenciais foram aplicados com auxílio de um pipetador automático em tiras de papéis de filtro de 5 x 2 cm, estes posteriormente presos à superfície interna da tampa da câmara de fumigação.

As concentrações testadas dos óleos essenciais de *P. marginatum* foram as que proporcionaram 95% de mortalidade dos ácaros fitófagos. Assim, para o óleo obtido do caule, inflorescência e folhas as concentrações foram de 0,8; 1,0 e 8,0 µL/L de ar, respectivamente. O tratamento controle foi isento de aplicação. Logo que aplicado o óleo/composto, a câmara de fumigação foi tampada e vedada com filme plástico PVC®. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três replicatas, totalizando três repetições. Transcorrido o período de exposição de 24 h do ácaro predador ao óleo essencial, foi avaliada a mortalidade, considerando o indivíduo morto, da mesma maneira descrito para *T. urticae*.

Análise Estatística. No bioensaio de toxicidade fumigante com *T. urticae* os dados relativos ao número de ovos, foram submetidos à transformação ($\sqrt{x+0,5}$). Após atenderem aos testes de normalidade e homogeneidade de variância (Proc univariate e GLM), os dados de mortalidade e do número de ovos foram submetidos à ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P=0,05$), utilizando o software SAS (versão 9.0) (SAS Institute 2002). Os dados de mortalidade foram submetidos a análise de PROBIT, utilizando o software POLO-PC (LeOra Software 1987), para obtenção das inclinações das curvas e estimativas das CL_{50} dos óleos e compostos testados. As razões de toxicidade e seus intervalos de confiança a 95% foram calculados segundo método descrito por Robertson & Preisler (1992), e consideradas

significativas quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0. No bioensaio de deterrência para oviposição, foi aplicado o teste T para comparar os dados referentes ao número de ovos/fêmea do tratamento e do controle. Ainda, o teste T foi utilizado a fim de comparar os dados de mortalidade de *N. californicus* com os de *T. urticae*.

Resultados e Discussão

A Figura 1 apresenta a quantidade de ovos e a mortalidade observada sob diferentes concentrações dos óleos essenciais e dos compostos majoritários testados. Os resultados apresentados mostram que a mortalidade do ácaro rajado para os óleos de *P. marginatum* (caule, inflorescência e folha) testados variou de acordo com a estrutura da planta que se extraiu o óleo essencial. Enquanto, que a observação da mortalidade quando exposto os compostos também variou de acordo com a classe química. Este fato é verificado nas concentrações testadas que foram mais elevadas para o ácaro rajado, que permitiu uma mortalidade acima de 95%.

Óleos essenciais de *P. marginatum* foram tóxicos ao ácaro rajado e variou de acordo com a parte da planta em que o óleo foi extraído (caule, inflorescência e folha). Os resultados apresentados na Tabela 1 indicam que o óleo do caule apresentou o mesmo nível de toxicidade do observado para o óleo da inflorescência. Os óleos do caule e inflorescência foram cerca de 10 vezes mais tóxicos do que o óleo essencial obtido a partir das folhas. Comparando esses dados com o controle positivo, o ácaro rajado foi cerca de 92,5 vezes mais susceptível ao eugenol do que para o óleo do caule. Essa toxicidade relativa dos óleos do caule, inflorescência e folha sobre o ácaro rajado foi similar quando comparado com os dados reportados por Autran *et al.* (2009) contra larvas do 4º instar de *Aedes aegypti*.

Diferenças significativas nas razões de toxicidade (RT₅₀) apresentada na Tabela 1 são encontradas para o ácaro rajado, sendo observado indivíduos mais heterogêneos quando testado os

óleos. A variabilidade genética entre indivíduos de uma mesma população é indicada pela inclinação da curva de concentração-mortalidade (Kerns & Gaylor 1992). Curvas com menor inclinação indicam maior variabilidade genética, sugerindo a presença de mais de um genótipo na população, denotando uma maior heterogeneidade de resposta aos inseticidas (Siqueira *et al.* 2000). Isto mostra que potencialmente tem havido pressões de seleção diferencial e/ou diversidade genética intra e interpopulacional que pode explicar a variabilidade observada nestes resultados.

A Figura 2 apresenta as médias de mortalidades do *N. californicus* na concentração em que os óleos de caule (0,8 µL/L de ar), inflorescência (1,0 µL/L de ar) e folha (8,0 µL/L de ar) promoveram $\geq 95\%$ de mortalidade de *T. urticae*. As médias de mortalidade para *T. urticae* foram maiores do que *N. californicus* e diferiram significativamente entre si para cada óleo testado, sugerindo que os óleos de *Piper* foram seletivos para o inimigo natural, *N. californicus*. Resultados semelhantes foram registrados por Han *et al.* (2010) para os óleos de *Carum carvi*, *Eugenia caryophyllata* e *Ocimum basilicum* para o mesmo inimigo natural do ácaro rajado. Por outro lado, os óleos *C. carvi*, *Citronella java*, *Eucalyptus citriodora*, *Mentha pulegium*, *M. Piperita* e *M. spicata* não foram seletivos para outro inimigo natural do ácaro rajado, *Phytoseiulus persimilis* (Choi *et al.* 2004).

A diferença na toxicidade observada entre o óleo da folha e caule/inflorescência de *P. marginatum* é, sem dúvida alguma, atribuída às diferenças qualitativas e/ou quantitativas de seus constituintes químicos. A investigação química desses óleos essenciais foi previamente reportada pelo nosso grupo de pesquisa e revelou como componentes principais, sesquiterpenos e fenilpropanóides (Autran *et al.* 2009). Dessa forma, os constituintes majoritários: (E)-asarone (32,6% no óleo do caule; 22,1% no óleo da inflorescência e 6,4% no óleo das folhas), patchoulol

(25,7/23,4 e 16,0%), (Z)-asarone (8,5/4,5 e 30,4%) e β -cariofileno (6,8/13,1 e 7,5%) foram avaliados e suas propriedades foram comparadas com os respectivos óleos e o controle positivo.

Os resultados da toxicidade dos constituintes principais, testados individualmente indicam que a propriedade acaricida variou de acordo com a classe química dos compostos (Tabela 1). Entre os sesquiterpenos testados, β -cariofileno foi mais tóxico do que os fenilpropanóides, mas apresentou a mesma toxicidade verificada para o patchoulol. Por outro lado, enquanto a susceptibilidade do ácaro foi a mesma para os estereoisômeros, (E) e (Z)-asarone, a toxicidade observada para o patchoulol não diferiu significativamente da apresentada para o (Z)-asarone. Em resumo, os sesquiterpenos foram mais tóxicos ao ácaro rajado do que os fenilpropanóides. Esses constituintes apresentaram atividade acaricida menor do que o controle positivo. Entre os constituintes testados sobre o ácaro rajado, também verificam-se razões de toxicidade elevadas, demonstrando que os ácaros expostos apresentavam elevado grau de heterogeneidade, sendo o mais ativo, o constituinte β -cariofileno cerca de 722 vezes menos tóxico do que o controle positivo.

Com o intuito de esclarecer as diferentes atividades observadas para os óleos de *Piper* sobre o ácaro rajado, as CL₅₀ estimadas para os óleos e os compostos majoritários selecionados foram comparadas entre si.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, o constituinte majoritário da folha, (Z)-asarone apresentou atividade acaricida inferior comparada com o óleo essencial, mas outros constituintes em percentual menor no óleo (7,55% de β -cariofileno e 16,0% de patchoulol) apresentaram o mesmo nível de toxicidade observado para o óleo de *Piper* das folhas. Esses dados sugerem que, entre os constituintes testados, os compostos: patchoulol e β -cariofileno são os que mais contribuem à propriedade acaricida registrada para o óleo das folhas.

No entanto, para os óleos da inflorescência e caule, nenhum dos compostos testados apresentou atividade acaricida no mesmo nível ou maior do que esses óleos. Nesse caso, levando em consideração as propriedades individuais dos compostos majoritários e seus respectivos percentuais relativos nos óleos do caule e inflorescência, observou-se um aumento no percentual de patchoulol (23,4% na inflorescência e 25,7% no caule) e (E)-asarone (22,1% na inflorescência e 32,6% no caule). Além desses dois constituintes, observou-se também um aumento no percentual de β -cariofileno (13,1%) para o óleo de inflorescência.

Mesmo não havendo registro de um dos compostos com atividade igual ou superior comparada com esses óleos, a forte atividade observada para os óleos do caule e inflorescência, comparada à das folhas pode ser justificada pela atividade observada dos compostos majoritários, em particular, patchoulol, associado ao seu percentual nos óleos, que foi maior nos óleos da inflorescência e caule.

Os resultados apresentados para a atividade acaricida dos óleos de *Piper* corroboram com dados reportados na literatura, que os componentes principais de um óleo essencial são, em geral, os responsáveis pela atividade apresentada pelo óleo (Bakkali *et al.* 2008, Akhtar & Isman 2012).

Outra importante propriedade desses óleos essenciais sobre o ácaro rajado, além da mortalidade, é a capacidade, desses óleos atuarem na redução da oviposição. Nos bioensaios que se avaliou a ação acaricida dos óleos de *Piper*, observou-se, a partir de determinadas concentrações dos óleos, uma redução significativa do número de ovos postos por ácaro, comparados com o controle. Para confirmar essa propriedade de deterrência de oviposição para os óleos de *Piper*, novos experimentos foram realizados na menor concentração usada para cada óleo de *Piper*, que diferiu significativamente do controle para determinar a quantidade de ovos por ácaro.

Na Figura 3 são apresentadas as média de ovos/fêmea na menor concentração dos óleos de *Piper* e dos compostos majoritários que diferiu significativamente do controle. Tanto os óleos quanto os compostos majoritários, a quantidade de ovos foi maior nos discos controle e diferiram significativamente quando comparados com os tratamentos. Esses dados sugerem que os óleos de *Piper* e os respectivos constituintes testados além de serem tóxicos ao ácaro eles também atuam na deterrência de oviposição. Essa propriedade tem sido observada para os óleos de *Salvia officinalis* (Laborda *et al.* 2013) e *Datura stramonium* (Kumral *et al.* 2010) e santalol, constituinte principal do óleo de *Santalum austrocaledonicum* (Roh *et al.* 2011) contra a mesma praga.

Com base nos resultados apresentados para os óleos de *Piper* sobre *T. urticae*, esses óleos, em especial os óleos do caule e inflorescência foram os mais promissores para o controle dessa praga. A propriedade acaricida desses óleos, associada à deterrência de oviposição e somada à sua seletividade ao inimigo natural, *N. californicus*, o torna um forte candidato para ser usado como princípio ativo na formulação de um acaricida natural. Quanto aos dados obtidos para os compostos majoritários dos óleos selecionados, a propriedade acaricida variou de acordo com a classe química desses compostos e os sesquiterpenos foram mais ativos do que os fenilpropanóides. Outro ponto relevante na atribuição da propriedade acaricida dos óleos de *Piper* é que os percentuais relativos, desses constituintes nos óleos é um fator importante a ser levado em consideração na atividade do óleo essencial.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de estudo concedida a Nicolle de Carvalho Ribeiro e apoio financeiro através dos projetos APQ-0520-5.01/08 e Projeto Universal CNPq No. 476503/09-4.

Literatura Citada

- Akhtar, Y. & M.B. Isman. 2012.** Plant natural products for pest management: the magic of mixtures. In: Ishaaya *et al.* (eds.), Adv. Technol. Manag. Ins. Pest. 231-247.
- Alzoubi, S. & S. Cobanoglu. 2008.** Toxicity of some pesticides against *Tetranychus urticae* Koch and its predatory mites under laboratory conditions. American- Eurasian J. Agric. Environm. Sci. 3(1): 30-37.
- Araújo, M.J.C., C.A.G. Câmara, F.S. Born, M.M. Moraes & C.A. Badji. 2012.** Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. Exp. Appl. Acarol. 57: 139–155.
- Assis, C.P.O., M.G.C. Gondim, H.A.A. Siqueira & C.A.G. Câmara. 2011.** Toxicity of essential oils from plants towards *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) and *Suidasia pontifica* Oudemans (Acari: Astigmata). J. Stored Prod. Res. 47(4): 311-315.
- Autran, E.S., I.A. Neves, C.S.B. da Silva, G.K.N. Santos, C.A.G. da Câmara & D.M.A.F. Navarro. 2009.** Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). Bioresour. Technol. 100: 2284-2288.
- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck & M. Idaomar. 2008.** Biological effects of essential oils-A review. Food Chem. Toxicol. 46: 446-475.
- Choi, W., S. Lee, H. Park & Y. Ahn. 2004.** Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 97(2): 553-558.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Junior & C.A.G. Câmara. 2011.** Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). Ciênc. Agrotec. 35(1): 172-178.
- Croft, B.A. 1990.** Management of pesticide resistance in arthropod pests, p. 149-168. In M.B. Green, W.K. Moberg & H.M. Lebaron (eds.), Managing Resistance to Agrochemicals: Fundamental and Practical Approaches to Combating Resistance. Washington, J. Amer. Chem. Soc. 498p.
- Estrela, J.L.V., M. Fazolin, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. Pesq. Agropec. Bras. 41(2): 217-222.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2007.** Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Bbarb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. Ciênc. Agrotec. 31(1): 113-120.

- Ferla, N.J., M.M. Marchetti & D. Goncalves. 2007.** Ácaros predadores (Acari) associados à cultura do morango (*Fragaria* sp., Rosaceae) e plantas próximas no Estado do Rio Grande do Sul. *Biota Neotrop.* 7(2): 103-110.
- Fiedler, Z. 2012.** Interaction between beneficial organisms in control of spider mite *Tetranychus urticae* (Koch). *J. Plant Prot. Res.* 52(2): 226-229.
- Fraulo, A.B & O.E. Liburd. 2007.** Biological control of twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*, with predatory mite, *Neoseiulus californicus*, in strawberries. *Exp. Appl. Acarol.* 43: 109-119.
- Gerson, U. & P.G. Weintraub. 2012.** Mites (Acari) as a factor in greenhouse management. *Annu. Rev. Entomol.* 57: 229-47.
- Grbic, M.; T.V. Leeuwen, R.M. Clark, S. Rombauts, P. Rouze, V. Grbic, E.J. Osborne, W. Dermauw, P.C.T. Ngoc, F. Ortego, P. Hernandez-Crespo, I. Diaz, M. Martinez, M. Navajas, E. Sucena, S. Magalhães, L. Nagy, R.M. Pace, S. Djuranovic, G. Smagghe, M. Iga, O. Christiaens, J.A. Veenstra, J. Ewer, R.M. Villalobos, J.L. Hutter, S.D. Hudson, M. Vélez, S.V. Yi, J. Zeng, A.P. Silva, F. Roch, M. Cazaux, M. Navarro, V. Zhurov, G. Acevedo, A. Bjelica, J.A. Fawcett, E. Bonnet, C. Martens, G. Baele, L. Wissler, A. Sanchez-Rodriguez, L. Tirry, C. Blais, K. Demeestere, S.R. Henz, T.R. Gregory, J. Mathieu, J. Verdon, L. Farinelli, J. Schmutz, E. Lindquist, E. Feyereisen, & Y.V. Peer. 2011.** The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature.* 472: 487-492.
- Han, J., B. Choi, S. Lee, S. Kim & Y. Ahn. 2010.** Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and -resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *J. Econ. Entomol.* 103(4): 1293-1298.
- Kerns, D.L. & M.J. Gaylor. 1992.** Insecticide resistance in field populations of the cotton aphid (Homoptera, Aphididae). *J. Econ. Entomol.* 85: 1-8.
- Kumral, N.A., S. Çobanoğlu & C. Yalcin. 2010.** Acaricidal, repellent and oviposition deterrent activities of *Datura stramonium* L. against adult *Tetranychus urticae* (Koch). *J. Pest Sci.* 83: 173–180.
- Laborda, R., I. Manzano, M. Gamón, I. Gavidia, P. Pérez-Bermúdez & R. Boluda. 2013.** Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Ind. Crop. Prod.* 48: 106-110.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit Logit analysis. Berkely.
- Melliou, E., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A.L. Skaltsounis & P. Magiatis. 2009.** High quality bergamot oil from Greece: chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against the west Nile virus vector. *Molecules.* 14: 839-849.

- Monteiro, L.B. 2002.** Criação de ácaros fitófagos e predadores: um caso de produção de *Neoseiulus californicus* por produtores de maçã, p. 351-365. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Côrrea-Ferreira & J.M.S. Bento (eds.), Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo, Manole, 635p.
- Motazedian, N. S. Ravan & A.R. Bandani. 2012.** Toxicity and repellency effects of three essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). J. Agr. Technol. 14: 275-284.
- Palácios, S.M., A. Bertoni, Y. Rossi, R. Santander & A. Urzúa. 2009.** Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. Molecules. 14: 1938-1947.
- Pontes W.J.T., J.C.S. Oliveira, C.A.G. Camara, A.C.H.R. Lopes, M.G.C. Godim-Júnior, J.V. Oliveira & M.O.E. Schwartz. 2007.** Composition and acaricidal activity of the resin's essential oil of *Protium bahianum* Daly against two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). J. Essent. Oil Res. 19: 379–383.
- Robertson J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. CRC Press, California.
- Roh, H.S., E.G. Lim, J. Kim & C.G. Park. 2011.** Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). J. Pest Sci. 84: 495–501.
- SAS Institute. 2002.** SAS user's guide: statistics, ver. 9.0, 7th edn. SAS Institute, Cary.
- Siqueira, H.A.A., R.N.C. Guedes, M.C. Picanço. 2000.** Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepdoptera: Gelechiidae). Agric. Forest Entomol. 2: 147-153.
- Scott, I.M., H.R. Jensen, B.J.R. Philógene & J.T. Arnas On. 2008.** A review of Piper spp. (Piperaceae). Phytochemistry, insecticide al activity and mode of action. Phytochem. Rev. 7: 65-75.
- Steinkraus, D., J. Zawislak, G. Lorenz, B. Layton, & R. Leonard. 2003.** Spider mites on cotton in the mid-South. Cotton Inc., Arkansas University, pp. 8
- Souto, R.N.P., A.Y. Harada, E.H.A. Andrade, J.G.S. Maia. 2012.** Insecticidal activity of piper essential oils from the amazon against the fire ant *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). Neotrop. Entomol. 41(6): 510-517.
- Toldi, M., N.J. Ferla, C. Dameda & F. Majolo. 2013.** Biology of *Neoseiulus californicus* feeding on two-spotted spider mite. Biotemas. 26 (2): 105-111.

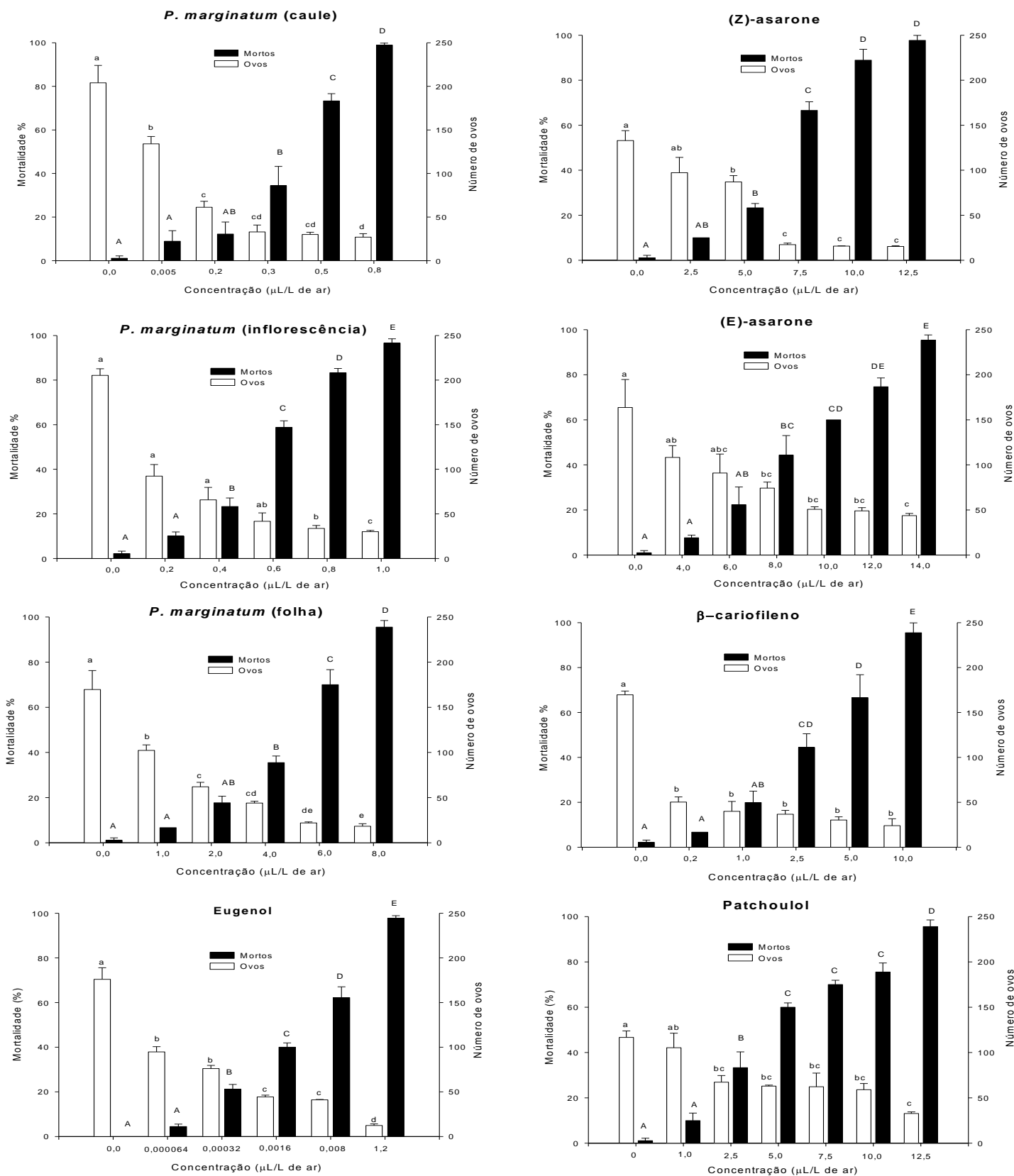


Figura 1. Percentual de mortalidade e média de oviposição de *Tetranychus urticae* quando submetidos aos vapores dos óleos essenciais de *Piper marginatum* caule, inflorescência, folha, Eugenol (controle positivo) e compostos majoritários (Z)-asarone, (E)-asarone, β-cariofileno e patchouliol.

Tabela 1. Ação fumigante dos óleos essenciais de diferentes partes da planta de *Piper marginatum*, compostos majoritários e do Eugenol (controle positivo) sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Óleos essenciais	N	GL	Inclinação±EP	CL ₅₀ μL/L de ar (IC) 95%	χ ²	RT ₅₀
Eugenol	640	3	0,85±0,076	0,004 (0,002-0,005)	1,52	-
<i>Piper marginatum</i> (caule)	540	3	5,64±0,58	0,37 (0,27-0,46)	7,61	105,84* (16,9-659,3)
<i>Piper marginatum</i> (inflorescência)	540	3	6,46±0,74	0,56 (0,42-0,65)	6,28	159,2* (25,4-995,4)
<i>Piper marginatum</i> (folha)	540	3	3,85±0,49	3,77 (2,12-4,12)	6,94	1070,6* (145,7-7866,1)
Compostos						
β-cariofileno	540	3	2,44±0,28	2,89 (1,51-4,30)	6,81	820,78* (57,56-11702,94)
patchoulol	630	4	2,31±0,20	4,00 (2,79-5,24)	8,96	1134,9* (164,2-7840,9)
(Z)-asarone	540	3	6,93±0,75	6,64 (5,05-7,70)	6,84	1883,9* (258,2-13744,5)
(E)-asarone	630	4	5,39±0,54	8,51 (7,14-9,61)	8,38	2413,3* (333,3-17471,9)

N= número de indivíduos; GL= Graus de liberdade; EP= Erro padrão; CL= Concentração letal;

IC= Intervalo de confiança; χ²= Quiquadrado; RT= Razão de toxicidade.

RT calculado pelo método de Robertson & Preisler; Eugenol=Controle positivo.

*Significativo quando não apresenta 1.

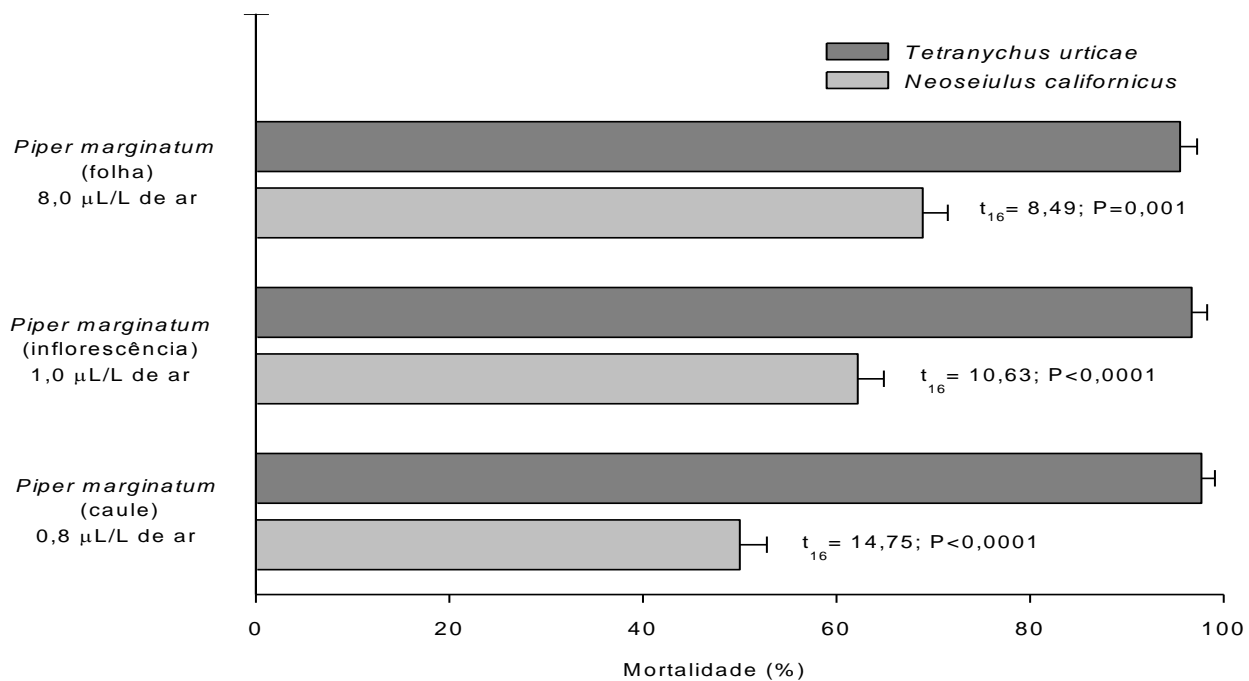


Figura 2. Mortalidade média de fêmeas de *Tetranychus urticae* e *Neoseiulus californicus* quando submetido a concentração do óleo essencial de *Piper marginatum* que promoveu >95% de mortalidade da presa, submetidos ao teste t.

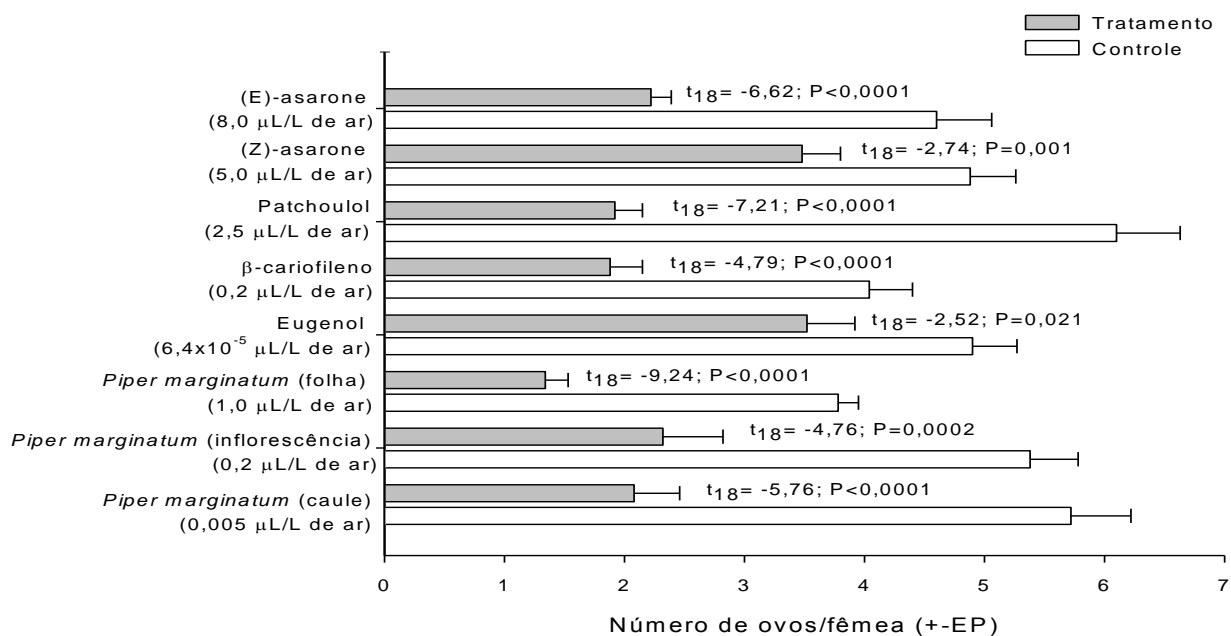


Figura 3. Média do número de ovos/fêmea de *Tetranychus urticae* quando submetido aos vapores dos óleos essenciais das diferentes partes da planta de *Piper marginatum* (caule, inflorescência e folha), dos compostos majoritários: β-cariofileno, Patchoulol, (Z) e (E)-asarone e o controle positivo (eugenol).

CAPÍTULO 4

ATIVIDADE REPELENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Mangifera indica*, *Piper marginatum* E QUATRO ESPÉCIES DO GÊNERO *Citrus* SOBRE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)¹

NICOLLE DE C. RIBEIRO² & CLÁUDIO A.G. DA CÂMARA³

²Departamento de Agronomia, Área Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, Pernambuco, Brasil.

³Departamento de Ciências Moleculares, Área Tecnologia Ambiental, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, Pernambuco, Brasil.

¹Ribeiro, N.C. & C.A.G. da Câmara. Atividade repelente dos óleos essenciais de *Mangifera indica*, *Piper marginatum* e quatro espécies do gênero *Citrus* sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a ser submetido.

RESUMO – Óleos essenciais das cascas dos frutos de *Citrus aurantifolia* (limão taiti), *C. limon* (limão siciliano), *C. reticulata* (tangerina cravo) e *C. sinensis* x *C. reticulata* (tangerina murcot); do látex de *Mangifera indica* var. rosa (manga rosa) e *M. indica* var. espada (manga espada) e do caule, inflorescência e folha de *Piper marginatum*, na concentração de 1% foram avaliados quanto a atividade repelente sobre *Tetranychus urticae* em laboratório pelo teste com chance de escolha após 12, 24 e 48h de exposição. Os dados de repelência foram comparados com o eugenol, usado como controle positivo. Os efeitos residuais dos óleos essenciais de espécies dos gêneros *Citrus*, *Mangifera* e *Piper* atuaram no comportamento do ácaro rajado, interferindo na preferência alimentar e de oviposição. Os resultados revelaram que o comportamento do ácaro rajado não variou com o passar do tempo. Entre os óleos testados, aqueles que foram mais repelentes aos ácaros foram os óleos de *Piper*, tangerina murcot, tangerina cravo e limão siciliano. Para preferência de oviposição, além desses óleos, o de manga espada também atuou na preferência do ácaro em ovipositar. Os testes com o óleo de manga rosa sugerem que esse óleo foi atraente para oviposição. Além da ação repelente de terpenos e fenilpropanóides selecionados dos óleos essenciais, o comportamento do ácaro rajado submetido aos estereoisômeros (R)/(S)-limoneno e (Z)/(E)-asarone também é discutido.

PALAVRAS CHAVE: Terpenos, fenilpropanóides, teste com chance de escolha, ácaro rajado, preferência alimentar, preferência de oviposição

REPELLENT ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM *Mangifera indica*, *Piper marginatum* AND FOUR SPECIES OF THE GENUS *Citrus* AGAINST *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)

ABSTRACT – Essential oils from the peels of Key lime (*Citrus aurantifolia*), lemon (*C. limon*), Mandarin orange (*C. reticulata*) and Murcott tangerine (*C. sinensis* x *C. reticulata*), the fruit latex of two varieties of mango (*Mangifera indica* – “rosa” and “espada”), as well as stems, flowers and leaves of the marigold pepper (*Piper marginatum*) were evaluated at a concentration of 1% with regard to repellent action against the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the laboratory using the odds of choice test after 12, 24 and 48 h of exposure. The data were compared to eugenol, which was the positive control. The residual effects of the essential oils from species of the genera *Citrus*, *Mangifera* and *Piper* acted on the behavior of the two-spotted spider mite with regard to feeding preference and oviposition. The marigold pepper, *Piper*, Murcott tangerine, Mandarin orange and lemon oils had the greatest repellent effects. These oils and that from the espada mango also affected the preference of the mite regarding oviposition. The tests involving the rosa mango suggest that this oil attracts the mite for oviposition. The repellent action of selected terpenes and phenylpropanoids of the essential oils and the behavior of the two-spotted spider mite when submitted to the stereoisomers (R) and (S)-limonene as well as (Z) and (E)-asarone are also discussed.

KEY WORDS: Terpenes, phenylpropanoids, choice test, two spotted spider mite, feeding preference, oviposition preference

Introdução

Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae), ácaro rajado, é uma das principais pragas que ocorre em ambientes abertos e fechados, com ampla distribuição no mundo (Gerson & Weintraub 2012). Em Pernambuco, essa praga tem causado grandes prejuízos nas culturas de interesse agrícola nos sistemas irrigados no município de Petrolina-PE, como nas fruteiras, leguminosas e plantas ornamentais. O principal tipo de controle das formas jovens e adultas do ácaro é através de acaricidas sintéticos. Considerando o ciclo de vida curto, associado à facilidade de locomoção dessa praga entre as plantas hospedeiras, devido a produção de teia, o uso indiscriminado desses acaricidas, além de poluir o meio ambiente, deixando resíduos em alimentos e atingindo pragas não-alvo, têm favorecido também o desenvolvimento de populações resistentes (Motazedian *et al.* 2012).

Um dos métodos de controle mais investigados nas últimas décadas é o uso de óleos essenciais, extraídos de plantas aromáticas, como alternativa aos pesticidas sintéticos (Isman 2000).

Óleo essencial é uma mistura complexa de compostos voláteis, constituído basicamente por terpenos e fenilpropanóides, os quais são reconhecidos por suas propriedades biológicas (Laborda *et al.* 2013). Vários estudos têm revelado que óleos essenciais podem atuar sobre *T. urticae*, promovendo atividade através da ação dos vapores (Lim *et al.* 2011, Amizadeh *et al.* 2013), efeito de deterrência (Roh *et al.* 2011, Mozaffari *et al.* 2013), contato residual (Laborda *et al.* 2013) e atividade de repelência (Kumral *et al.* 2010, Motazedian *et al.* 2012). Com relação a ação repelente, alguns desses óleos têm sido usado como princípio ativo de pesticidas e na formulação de repelentes (Curtis *et al.* 1989).

Dessa forma, a natureza volátil dos óleos essenciais os tornam um excelente candidato na formulação de um produto que possa agir localmente ou a distância evitando aproximação de um

artrópode à uma planta hospedeira. Para um óleo essencial, a ação repelente é decorrente das interações entre as substâncias presentes no óleo essencial que atuam em vários artrópodes, através do contato residual e pela ação de vapor (Nerio *et al.* 2010).

Entre os gêneros botânicos, ricos na produção de óleos essenciais, que ocorrem naturalmente ou são cultivados no Nordeste brasileiro, destacam-se *Citrus*, *Mangifera* e *Piper*. Plantas desses gêneros são reconhecidas pelas propriedades repelentes sobre artrópodes, inclusive contra o ácaro rajado. Vários estudos têm sido realizados sobre o potencial inseticida dos óleos essenciais de *Citrus* sobre diferentes pragas: *C. chachiensis* (Li *et al.* 2012), *C. aurantifolia* (Hazarikaa *et al.* 2012), *C. sinensis* var. pêra e var. mimo, *C. aurantium* (Araújo-Júnior *et al.* 2010), *C. paradisi* (Yoon *et al.* 2009) e *C. hystrix* (Usavadee *et al.* 2007); *Piper*: *P. aduncum* (Norashiqin *et al.* 2009, Araújo *et al.* 2012), *P. nigrum* (Chaubey 2007, Usavadee *et al.* 2007) e *P. taboganum* (Roussis *et al.* 1990) e *Mangifera* spp. (Vernede *et al.* 1994, Alwala *et al.* 2010) apresentaram atividade repelente significativa contra artrópodes de importância agrícola (*Myzus persicae*, *T. urticae*, *Tribolium castaneum*, *Acromyrmex octospinosus*), na medicina humana (*Aedes albopictus*, *Anopheles gambiae*, *An. karwari*, *An. koliensis*; *Simulium* spp.) e área urbana (*Blatella germânica*, *Periplaneta americana* e *P. fuliginosa*, *Neostylopyga rhombifolia*). Dessa forma, nenhum óleo essencial da espécie selecionada para estudo tem sido até o momento, objeto de investigação prévia da ação repelente sobre ácaro rajado.

Dessa forma, na busca de novos produtos com propriedades acaricidas, esse trabalho descreve a ação repelente dos óleos essenciais e de constituintes químicos selecionados das espécies de *C. aurantifolia* (limão taiti), *C. limon* (limão siciliano), *C. reticulata* (tangerina cravo) e *C. sinensis* x *C. reticulata* (tangerina murcot); *Mangifera indica* var. rosa (manga rosa) e *M. indica* var. espada (manga espada) e *Piper marginatum* (caule, inflorescência e folha), com o intuito de avaliar a preferência alimentar e de oviposição sobre *T. urticae*. Esse estudo também

teve o objetivo de investigar a ação repelente de alguns terpenos e fenilpropanóides, identificados nesses óleos. O comportamento do ácaro rajado submetido aos estereoisômeros (R) e (S)-limoneno e (Z) e (E)-asarone também é discutido.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos e no Laboratório de Biologia de Insetos, ambos na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Material Vegetal. As espécies do gênero *Citrus* selecionadas foram: *C. aurantifolia* Tanaka (Limão taiti), *C. limon* L. Burm f. (Limão siciliano), *C. reticulata* Blanco (Tangerina cravo) e *C. sinensis* Osbeck x *C. reticulata* Blanco (Tangerina murcot). Nestas plantas os óleos essenciais foram extraídos das cascas de frutos maduros coletados no Sítio Cigarra, no município de Santana do Mundaú Alagoas-AL, em maio de 2008. As espécies foram identificadas pela Dra. Suzene Izidio da Silva do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Uma exsicata de cada espécie foi depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE sob os números: 48734, (*C. aurantifolia*); 48736, (*C. limon*); 48738, (*C. reticulata*); 48740 e (*C. sinensis* x *C. reticulata*). Ainda, foram selecionadas duas variedades de *M. indica*, das quais foram extraídos os óleos essenciais do látex dos frutos coletados no campus da UFRPE em dezembro de 2010. As plantas foram identificadas pela especialista Ladjane C. Gomes e as exsicatas identificadas sob os números: 364 (*M. indica* var. espada) e 363 (*M. indica* var. rosa). Outra espécie utilizada no estudo foi *P. marginatum*, sendo separadas o caule, inflorescência e folha dessas plantas, também coletadas no campus da UFRPE em um fragmento de Mata Atlântica, no município de Recife, em dezembro de 2011. O material vegetal foi identificado pela

Dra. Margareth F. de Sales do Departamento de Biologia da UFRPE e uma excicata da planta foi registrada sob o número 48210 e depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE.

Obtenção dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais foram obtidos a partir das cascas dos frutos (100g) de cada espécie de *Citrus*, do látex dos frutos de cada variedade de *M. indica* e do caule, inflorescência e folha das plantas de *P. marginatum*, utilizando um aparelho de Clevenger modificado, através da técnica de hidrodestilação por 2 horas. Os óleos inicialmente obtidos foram separados por diferença de densidade da água, secos em sulfato de sódio anidro, estocados em vidros âmbar hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração a +5°C antes de serem submetidos aos bioensaios. O rendimento dos óleos foi expresso em percentagem (g/100g do material vegetal fresco).

Identificação dos Óleos por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas. A análise quantitativa dos óleos de *Citrus* foi realizada utilizando um instrumento Hewlett-Packard 5890 Series II GC, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (30mm x 0,25mm x 0,25mm) J & W Scientific. A temperatura do forno foi programada de 50 – 250 °C a uma taxa de 3 °C/min. A temperatura do injetor e detector foi 250°C. Hélio foi utilizado como gás de arraste na velocidade de 1 L/min e 30 p.s.i. no modo split (1:30). O volume de amostra injetada foi 0,5 µL de uma solução 1/100 diluída com hexano. A quantidade de cada composto foi calculada a partir da área do pico do composto no CG e expresso em percentagem relativa do total da área do cromatograma. As análises foram obtidas em triplicata e os resultados foram submetidos à análise estatística descritiva. Os índices de retenção foram obtidos pela co-injeção do óleo com uma mistura de hidrocarbonetos lineares C₁₁-C₂₄ e calculados de acordo com a equação de Van den Dool & Kratz (1963). Os compostos foram identificados com base na comparação dos índices de retenção calculados com os disponíveis na literatura, seguida pela comparação do fragmentograma de padrões das massas reportados na literatura, bem como pela comparação

direta das sugestões das massas disponíveis na biblioteca do computador (Wiley, com 250.000 compostos), contemplando apenas as similaridades entre os fragmentogramas.

O óleo essencial do latex dos frutos das variedades de *M. indica* e do caule, inflorescência e folha de *P. marginatum* foram previamente identificados pelo mesmo método descrito para os óleos de *Citrus* e reportado por Ramos *et al.* (2012) e Autran *et al.* (2009), respectivamente.

Compostos Químicos. Para seleção do estereoisômero (R) ou (S), além do preço e disponibilidade no comércio, levou-se em consideração o estereoisômero mais abundante em óleos essenciais (Melliou *et al.* 2009, Palácios *et al.* 2009). Os componentes selecionados para os bioensaios foram: (R) e (S)-limoneno, α -terpineol, α -pineno, patchoulol, (E)-asarone, (Z)-asarone, β -pineno, β -cariofileno, (R)-linalol, *p*-cimeno, terpinoleno, terpinen-4-ol e eugenol, usado como controle positivo, foram adquiridos da Sigma - Aldrich - Brasil.

Criação de *Tetranychus urticae*. A população de *T. urticae* foi adquirida do Laboratório de Acarologia Agrícola da UFRPE. A criação foi estabelecida sobre plantas de feijão-de-porco, (*Canavalia ensiformes* L.) que frequentemente foram cultivadas em vasos com capacidade de 5 L contendo terra misturada com húmus (3:1). No Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE, para manutenção da criação, plantas com 25 dias de idade eram infestadas com ovos, larvas, ninfas e adultos do ácaro rajado. A criação estoque não foi exposta aos acaricidas e foi mantida sob a temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 65 ± 5 % e 12 h fotofase.

Teste com chance de escolha. A metodologia de dupla escolha foi a mesma utilizada por Miresmailli & Isman com adaptações (2006). Placas de Petri de 10 cm de diâmetro foram utilizadas como arenas para as montagens dos bioensaios. Na placa de Petri foi colocada uma espuma de polietileno, umedecida com água destilada e posteriormente um disco de papel de filtro, ambos de mesmo diâmetro. Folhas desenvolvidas das plantas de *C. ensiformes*, feijão de porco, com 25 a 40 dias, foram utilizadas nos experimentos dos quais discos foliares foram

cortados, com o auxílio de um vazador de metal cilíndrico de 2,5 cm de diâmetro e imersos em solução. A concentração usada no experimento foi a 1% do óleo essencial ou composto testado diluído em metanol. O controle foi aplicado somente metanol. Após a secagem os discos foliares foram colocados sobre o papel de filtro e a espuma levemente umedecida no interior da placa de petri. Os discos foliares (tratado e controle) foram dispostos separados por uma lamínula quadrada de 18 mm que serviria para fixar parte dos discos foliares em extremidades opostas da lamínula. Após o preparo da arena 30 ácaros fêmeas foram liberados sobre a lamínula. O delineamento foi inteiramente casualizado com 10 repetições. Avaliações após 12, 24 e 48 horas foram realizadas por meio da contagem do número de ácaros e ovos nos discos tratados e não tratados.

Análise Estatística. Os dados de preferência do número de fêmeas na folha tratada e controle em nas observações de 12, 24 e 48h foram calculados através do Teste de χ^2 . A hipótese sugerida é que existe uma proporção de 50:50 na quantidade de fêmeas distribuída na folha tratada e na folha controle. Para o número de ovos após 48h foram submetidos à ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (P=0,05), utilizando a versão 7.6 Beta do software Assistat (Silva 2013).

Resultados e Discussão

A Figura 1 apresenta a preferência alimentar e de oviposição após 48h de exposição do ácaro rajado aos óleos essenciais de *Citrus*, *Mangifera* e *Piper* a 1% de concentração. Os efeitos residuais dos óleos essenciais de espécies dos gêneros *Citrus*, *Mangifera* e *Piper* atuaram no comportamento do ácaro rajado, interferindo na preferência alimentar e de oviposição. Os resultados desses testes revelaram que o comportamento do ácaro não variou com o passar do tempo. Ou seja, não houve diferença significativa entre as avaliações na preferência alimentar e de oviposição, realizadas em 12, 24 e 48h após tratamento com os óleos. De acordo com os dados

apresentados na Figura 1, apenas a exposição do ácaro aos óleos de limão taiti, manga rosa e espada não foram observadas diferenças significativas entre o número de ácaros/ovos no disco controle e tratado, indicando que esses óleos não interferiram na preferência alimentar e/ou de oviposição do ácaro rajado.

Entre os óleos testados, aqueles que foram mais repelentes aos ácaros foram os óleos de *Piper* (caule, inflorescência e folha), tangerina murcot, tangerina cravo e limão siciliano. De fato, independentemente do tempo de exposição (12, 24 e 48h) do ácaro aos óleos, a média de ácaro nos discos tratados foram menores com esses óleos e não diferiram entre si, porém diferiu significativamente dos outros óleos testados ($F_{9,90} = 7,57$; $P < 0,001$). Quanto à preferência de oviposição existiu uma correlação direta entre a localização do ácaro e o número de ovos no decorrer do tempo de avaliação, conseqüentemente, menor quantidade de ovos foi observada no disco tratado. Resultados semelhantes foram obtidos com o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* nos testes de repelência através da mesma metodologia sobre o ácaro rajado (Miresmailli & Isman 2006).

Quando os ácaros foram expostos aos óleos de *Piper* (caule, inflorescência e folha), tangerina murcot, tangerina cravo e limão siciliano, além do óleo de manga espada, a média de ovos no disco tratado não diferiram entre si, mas diferiram significativamente quando comparados com a média de ovos dos discos tratados com aos óleos de limão taiti e manga rosa ($F_{9,90} = 8,36$; $P < 0,001$) (Fig. 1). Por outro lado, mesmo não diferindo significativamente o número de ovos no disco controle e tratado, para o óleo de manga rosa, observou-se que a média de ovos postos nos discos tratados com esse óleo, foi muito superior, comparado com a média de ovos dos discos tratados com os demais óleos. Esses dados sugerem que houve um estímulo direto, nessa condição de experimento, na reprodução do ácaro, e possivelmente se retratando como hormoligose. Esse estímulo é considerado um dos mecanismos, que ajuda a explicar casos de ressurgência de pragas.

Os casos mais conhecidos de ressurgência são observados com pesticidas sintéticos sobre espécies pertencentes à família Tetranychidae (Luckey 1968), entretanto há necessidade de mais estudos para confirmar esse efeito para o óleo de manga rosa.

Este é o primeiro relato da ação repelente para as espécies dos gêneros *Citrus*, *Mangifera* e *Piper*, sobre o ácaro rajado. Porém, a ação repelente sobre essa mesma praga tem sido reportado para óleos essenciais das espécies *Citrus. sinensis* var. pêra e var. mimo e *C. aurantium* (Araújo-Júnior 2010).

A ação repelente observada para os óleos de *Citrus*, *Mangifera* e *Piper* é atribuída à sua propriedade de volatilização de seus constituintes químicos associado à proporção em cada óleo (Tabela 1). Dessa forma, com o intuito de avaliar a propriedade repelente individual de constituintes químicos dos óleos testados, alguns monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides foram selecionados e suas propriedades repelentes foram investigadas para melhor entendimento da ação dos óleos de *Citrus*, *Mangifera* e *Piper* sobre o ácaro rajado.

As Figuras 2 e 3 apresentam as distribuições de ácaros e número de ovos nos discos controle e tratado com os seguintes constituintes químicos dos óleos essenciais investigados, nove monoterpenos (α -terpineol, α -pineno, β -pineno, (R)-limoneno, (S)-limoneno, (R)-linalol, p -cimeno, terpinoleno, terpinen-4-ol), dois sesquiterpenos (β -cariofileno e patchoulol) e dois fenilpropanóides ((Z) e (E)-asarone) identificados nos óleos investigados (Tabela 2).

Para as comparações relativas dos resultados da ação repelente entre os compostos selecionados observou-se o mesmo efeito repelente para os compostos terpinen-4-ol, terpinoleno, (R)-linalol, p -cimeno, (S)-limoneno, patchoulol, (Z)-asarone e (E)-asarone, durante as primeiras 12 e 24h. Para o (E)-asarone, após 48h, o número de ácaro foi igual em ambos os discos.

A quantidade de ácaros nos discos controle e tratado não diferiu significativamente quando os ácaros foram expostos aos compostos: β -cariofileno, α -pineno, β -pineno, α -terpineol e (R)-limoneno, durante todo o período de avaliação.

Esses resultados indicam que a grande maioria dos constituintes químicos dos óleos avaliados foi repelente nas primeiras 12 e 24h. No entanto, a ação repelente mais prolongada entre os compostos ($F_{13,126} = 5,53$; $P < 0,001$), ou seja, após 48h foi observada para os compostos terpinen-4-ol, (R)-linalol, patchoulol e (Z)-asarone. A quantidade de ácaros observados no tratamento para esses compostos não diferiu entre si, nem comparado ao controle positivo, eugenol, sugerindo que esses compostos apresentaram propriedade repelente similar ao controle positivo.

Entre os compostos testados, apenas α -terpineol e α - e β -pineno não contribuíram significativamente entre o disco controle e tratado, na escolha do ácaro ovipositar (Fig. 3). Por outro lado, todos os outros compostos testados ($F_{13,126} = 5,61$; $P < 0,001$), com exceção do (R)-limoneno, atuaram igualmente na preferência do ácaro ovipositar no disco controle, inclusive comparado aos resultados obtidos para o controle positivo.

Utilizando a mesma metodologia para avaliar a ação repelente de constituintes majoritários identificados nos óleos de *Eucalyptus bicostata*, *E. maidenii*, *E. sideroxylon*, *E. approximans* e *Callistemon viminalis*, Rho *et al.* (2013) reportaram a mesma ação repelente sobre ácaro rajado observada em nosso trabalho para α -pineno e (S)-limoneno. No entanto no trabalho apresentado por Rho *et al.* (2013) o tipo de enantiômero (R ou S) desses monoterpene não foi especificado.

Em geral, a quantidade de ovos no disco controle e tratado está relacionado à preferência alimentar do ácaro no decorrer do tempo de exposição de um produto (Sabelis 1985). O efeito observado sobre o ácaro para o β -cariofileno, (E)-asarone e (R)-limoneno na preferência de oviposição foi oposta. Ou seja, mesmo diferindo significativamente o número de ovos entre o

disco controle e tratado, quando os ácaros foram expostos ao β -cariofileno e (E)-asorone, preferiram ovipositar no disco controle, enquanto que expostos ao (R)-limoneno, preferiram ovipositar no disco tratado, sugerindo efeito atraente de oviposição para esse monoterpreno.

Com base nos resultados obtidos para os óleos de *Citrus* (limão siciliano e taiti, tangerina cravo e murcot) e dos constituintes químicos selecionados (principais e minoritários) conclui-se possivelmente que a propriedade acaricida observada para esses óleos está diretamente relacionada com os resultados obtidos para os respectivos constituintes selecionados. Por exemplo, com base na identificação química dos óleos de *Citrus*, esses óleos apresentaram o mesmo perfil químico com a presença de monoterpenos e sesquiterpenos na mesma proporção e limoneno como constituinte majoritário (Tabela 2). Apesar desses óleos apresentarem similaridade na composição química (maior similaridade foi observada para os óleos das tangerinas do que entre os óleos dos limões) e o mesmo componente principal, apenas o óleo de limão taiti não apresentou ação repelente. Portanto, os resultados obtidos para os óleos de *Citrus* investigados quanto à propriedade repelente sobre o ácaro rajado não pode ser atribuída apenas às atividades registradas para os constituintes principais e minoritários selecionados a partir desses óleos, mas também de suas interações com aqueles identificados nos óleos e não testados, bem como a proporção em que são encontrados no óleo.

Para os óleos das variedades de manga, a similaridade entre os componentes identificados foi ainda maior, comparada com os óleos de *Citrus*. No entanto, as diferenças quantitativas entre os componentes químicos identificados nos óleos das mangas foram mais significativas.

Entre os constituintes majoritários selecionados a partir do óleo de manga rosa [β -pineno (40,7%), terpinoleno (28,3%) e α -pineno (11,5%)] e terpinoleno (73,6%) para manga espada, apenas terpinoleno atuou na preferência alimentar e de oviposição do ácaro rajado no mesmo nível comparado com o controle positivo, mas ambos os óleos não apresentaram ação repelente.

Esses dados sugerem uma provável interação antagônica entre os constituintes do óleo com terpinoleno.

A composição química apresentada para os óleos de *Piper* (caule, inflorescência e folha), quanto ao potencial repelente, variou basicamente na quantidade identificada dos constituintes em cada óleo. O perfil químico desses óleos caracterizou-se pela grande quantidade de sesquiterpenos e fenilpropanóides, onde (E)-asarone e patchoulol foram os constituintes majoritários no caule e inflorescência e (Z)-asarone como componente principal do óleo das folhas (Autran *et al.* 2009). Mesmo com as diferenças quantitativas e qualitativas observadas para a composição química desses óleos, a ação repelente não diferiu significativamente entre eles. Esses resultados para os óleos, comparados com os observados para os constituintes selecionados (principais e minoritários dos óleos), sugerem que entre os minoritários, apenas (R)-linalol apresentou ação repelente no mesmo nível do observado para o controle positivo, enquanto que patchoulol e (Z)-asarone, compostos principais, apresentaram forte influência sobre o ácaro na preferência alimentar e de oviposição. Outros resultados significativos para deterrência de oviposição foram obtidos para os constituintes (E)-asarone e β -cariofileno. Dessa forma, os dados obtidos para os compostos selecionados, sugerem que independentemente do percentual encontrado no óleo, esses constituintes contribuem significativamente para a atividade repelente apresentada para os óleos, sem desconsiderar uma possível atividade repelente para os demais constituintes identificados nos óleos.

Uma quantidade significativa de pesticidas comercializados para todos os fins, inclusive para o controle de pragas apresentam centros quirais e são produzidos como misturas racêmicas, ou seja, mesma quantidade de estereoisômeros do tipo enantiômeros (R) e (S) (Williams 1996). Em alguns casos, apenas um desses estereoisômeros é ativo como pesticida, enquanto o outro apresenta menor atividade contra organismos não-alvo. Vários trabalhos têm reportado a atividade

de pesticidas sintéticos quirais, no entanto, poucos são as pesquisas voltadas a avaliar a propriedade de compostos puros quirais que ocorrem em óleos essenciais.

Resultados interessantes foram observados para os compostos estereoisômeros, como por exemplo, (R) e (S)-limoneno e (Z) e (E)-asarone. Esses compostos apresentam a mesma fórmula molecular, mas diferem na forma como os átomos estão organizados no espaço (Fig. 4). Exposição desses compostos ao ácaro rajado promoveu diferenças significativas na mudança de comportamento da praga. Óleos essenciais são misturas geralmente de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides, que podem existir nas formas estereoisômeras descritas acima. Em geral, a presença desses estereoisômeros na natureza é na forma de excesso enantiomérico, ou seja, a presença de uma das formas estereoisomérica em maior quantidade. Por exemplo, o (R)-limoneno é o enantiômero mais abundante do que o (S)-limoneno, presente nos óleos de limão, laranja e outros frutos de citros (Melliou *et al.* 2009, Palacios *et al.* 2009).

Os resultados dos testes de repelência com o ácaro rajado obtidos para os pares enantioméricos, (R)-limoneno e (S)-limoneno sugerem que eles atuaram diferentemente no comportamento do ácaro. Ou seja, (R)-limoneno não apresentou ação repelente, no entanto, os ácaros preferiram ovipositar no disco tratado. Por outro lado, o estereoisômero, (S)-limoneno apresentou atividade repelente e deterrente de oviposição. Esses resultados sugerem a presença de biorreceptores específicos no ácaro rajado, responsáveis por distinguir esses pares de estereoisômeros refletindo na mudança de comportamento.

Para os isômeros geométricos, (Z) e (E)-asarone observou-se também diferenças significativas na preferência alimentar, mas na preferência de oviposição não houve diferença nos resultados apresentados para esses estereoisômeros.

Os dados apresentados para ação repelente dos óleos e dos componentes químicos selecionados sobre o ácaro rajado variaram de acordo com o tipo de óleo, mesmo proveniente de espécies do mesmo gênero e da proporção e diversidade química encontrada nos óleos testados.

O maior potencial repelente foi observado para os óleos de *Piper*, seguido de limão siciliano, tangerina cravo e murcot. Os óleos das variedades das mangas e limão taiti não atuaram na preferência alimentar e de oviposição do ácaro rajado. Porém, o óleo de manga rosa estimulou diretamente a reprodução do ácaro, e possivelmente pode ser atribuído a hormoligose e que ajuda a explicar casos de ressurgência de pragas.

A propriedade repelente observada para os compostos puros selecionados independe da classe química que eles pertencem (terpenóides e fenilpropanóides). A susceptibilidade do ácaro rajado frente aos estereoisômeros do limoneno está de acordo com o que Barreiros *et al.* (1997) afirmaram, ou seja, que a interação de compostos quirais, com um organismo vivo apresentam atividade biológica geralmente distintas. De fato, os estereoisômeros do limoneno apresentaram propriedades repelentes distintas. Para os diastereoisômeros (Z) e (E)-asarone, propriedades repelentes distintas também foram observadas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de estudo concedida a Nicolle de Carvalho Ribeiro e apoio financeiro através dos projetos APQ-0520-5.01/08 e Projeto Universal CNPq No. 476503/09-4.

Literatura Citada

Alwala, O. J., W. Wanzala, R.A. Inyambukho, E.M. Osundwa & I.O. Ndiege. 2010. Characterization and evaluation of repellent effect of essential oil of *Mangifera indica* L. from Kenya. J. Essent. Oil Bear. Plant. 13(1), 85-96.

- Amizadeh, M., M.J. Hejazi & A. Saryazdi. 2013.** Fumigant toxicity of some essential oils on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Int. J. Acarol.* 39(2): 285-289.
- Araújo, M.J.C., C.A.G. Câmara, F.S. Born, M.M. Moraes & C.A. Badji. 2012.** Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 139–155.
- Araújo-Junior, C.P., C.A.G. Câmara, I.A. Neves, N.C. Ribeiro, C.A.Gomes, M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three Citrus species cultivated in NE Brazil. *Nat. Prod. Commun.* 5(3): 471-6.
- Autran, E.S., I.A. Neves, C.S.B. da Silva, G.K.N. Santos, C.A.G. da Câmara & D.M.A.F. Navarro. 2009.** Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). *Bioresour. Technol.* 100: 2284-2288.
- Barreiros, J.E., V.F. Ferreira & P.R.R. Costa. 1997.** Substâncias enantiomericamente puras (SEP): A questão dos fármacos quirais. *Quim. Nova.* 20(6): 647-656.
- Chaubey, M.K. 2007.** Toxicity of essential oils from *Cuminum cyminum* (Umbelliferae), *Piper nigrum* (Piperaceae) and *Foeniculum vulgare* (Umbelliferae) against stored-product beetle *Tribolium castaneum* herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Agric. Food Chem.* 6(1): 1719-1727.
- Curtis, C., J. Lines, B. Lu. & A. Renz. 1989.** Natural and synthetic repellents. In: Curtis, C.F. (Ed.), *Appropriate technology in vector control*. CRC Pres, Florida. Chapter 4.
- Hazarikaa, S., S. Dhiman, B. Rabha, R.K. Bhola, & L. Singh. 2012.** Repellent activity of some essential oils against Simulium species in India. *J. Insect Sci.* 12: 5.
- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603-608.
- Kumral, N.A., S. Çobanoğlu & C. Yalcin. 2010.** Acaricidal, repellent and oviposition deterrent activities of *Datura stramonium* L. against adult *Tetranychus urticae* (Koch). *J. Pest Sci.* 83: 173–180.
- Laborda, R., I. Manzano, M. Gamón, I. Gavidia, P. Pérez-Bermúdez & R. Boluda. 2013.** Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Ind. Crop. Prod.* 48: 106-110.
- Li, W. L. Zhuang, G. Fu, Yang, L. Yang, H. Li & G. Yuan. 2012.** Chemical analysis of active volatile components in two aromatic plants of *Citrus chachiensis* hortorum and *Kaempferia galanga* for repelling alate *Myzus persicae*. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa.* 24(12): 1821-1827.

- Lim, E., H. Lee & C.G. Park. 2011.** Fumigant activity of essential oils and their components from *Eucalyptus codonocarpa* and *E. dives* against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) at three temperatures. *J. Appl. Entomol.* 136(9): 698-703.
- Luckey T.D. 1968.** Insecticide hormoligosis. *J. Econ. Entomol.* 61(1):7-12.
- Melliou, E., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A.L. Skaltsounis & P. Magiatis. 2009.** High quality bergamot oil from Greece: chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against the west Nile virus vector. *Molecules.* 14: 839-849.
- Miresmailli, S., R. Bradbury & M.B. Isman. 2006.** Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Manag. Sci.* 62: 366–371.
- Motazedian, N. S. Ravan & A.R. Bandani. 2012.** Toxicity and repellency effects of three essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *J. Agr. Technol.* 14: 275-284.
- Mozaffari, F., H. Abbasipour, A. S. Garjan, A. Saboori & M. Mahmoudvand. 2013.** Toxicity and oviposition deterrence and repellency of *Mentha pulegium* (Lamiaceae) essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae). *J. Essent. Oil Bear. Plant.* 16(5): 575-581.
- Nerio, L.S., J. Olivero-Verbel & E. Stashenko. 2010.** Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresour. Technol.* 101: 372-378.
- Norashiqin, M., S. Sulaiman, H. Othman & B. Omar. 2009.** Repellency of essential oil of *Piper aduncum* against *Aedes albopictus* in the laboratory. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 25(4): 442-447.
- Palácios, S.M., A. Bertoni, Y. Rossi, R. Santander & A. Urzúa. 2009.** Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. *Molecules.* 14: 1938-1947.
- Ramos, E.H.S., M.M. de Moraes, G.C.G. Militão, C.A.G. da Câmara, T.G. Silva. 2012.** Chemical composition and cytotoxic activity of sap essential oil from two *Mangifera indica* L. fruits varieties. In: 44th Brazilian congress of pharmacology and experimental therapeutics cell damage as a therapeutic Target, Foz do Iguaçu. *Anais do 44th Brazilian congress of pharmacology and experimental therapeutics cell damage as a therapeutic target.*
- Roh, H.S., E.G. Lim, J. Kim & C.G. Park. 2011.** Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *J. Pest Sci.* 84: 495–501.

- Roh, H.S., B.H. Lee & C.G. Park. 2013.** Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). *J.Asia-Pac. Entomol.* 16: 245-249.
- Roussis, V., S.A. Ampofo & D.F. Wiemer. 1990.** A prenylated benzoic acid derivative from the leaves of *Piper taboganum*. *Phytochem.* 29(6): 1787-1788.
- Sabelis, M.W. 1985.** Reproductive strategies in spider mites: their biology, natural enemies and control. In: Helle, W., Sabelis, M. W. (Eds.), *World crop pests*, 1B. Elsevier, Amsterdam 265-278p.
- Silva, F.A.S. 2013.** ASSISTAT versão 7.6 beta. Campina Grande-PB: Assistência estatística, departamento de engenharia agrícola do CTRN - Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Campina. Disponível em: < <http://www.assistat.com/index.html> >. Acesso em: 26 dez. 2013.
- Usavadee, T., A. Tawatsin, P. Bhakdeenuan, P. Wongsinkongman, T. Boonruad, J. Bansiddhi, P. Chavalittumrong, N. Komalamisra, P. Siriyasatien & M.S. Mulla. 2007.** Repellent activity of essential oils against cockroaches (Dictyoptera: Blattidae, Blattellidae, and Blaberidae) in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health.* 38(4): 663-673.
- Van Den Dool, E. & P. Kratz. 1963.** A Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatography A*, Amsterdam, v. 11, pp. 463.
- Vernede R; M.M. Van Meer & M.P. Alpers. 1994.** Smoke as a form of personal protection against mosquitos, a field study in Papua New Guinea. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health.* 25(4): 771-775.
- Williams, A. 1996.** Review - Opportunities for chiral agrochemicals. *Pest Sci.* 46:3-9.
- Yoon, Changmann, S. Kang, J. Yang, D. Noh, P. Indiragandhi & G. Kim. 2009.** Repellent activity of citrus oils against the cockroaches *Blattella germanica*, *Periplaneta americana* and *P. fuliginosa*. *J. Pest. Sci.* 34(2): 77-88.

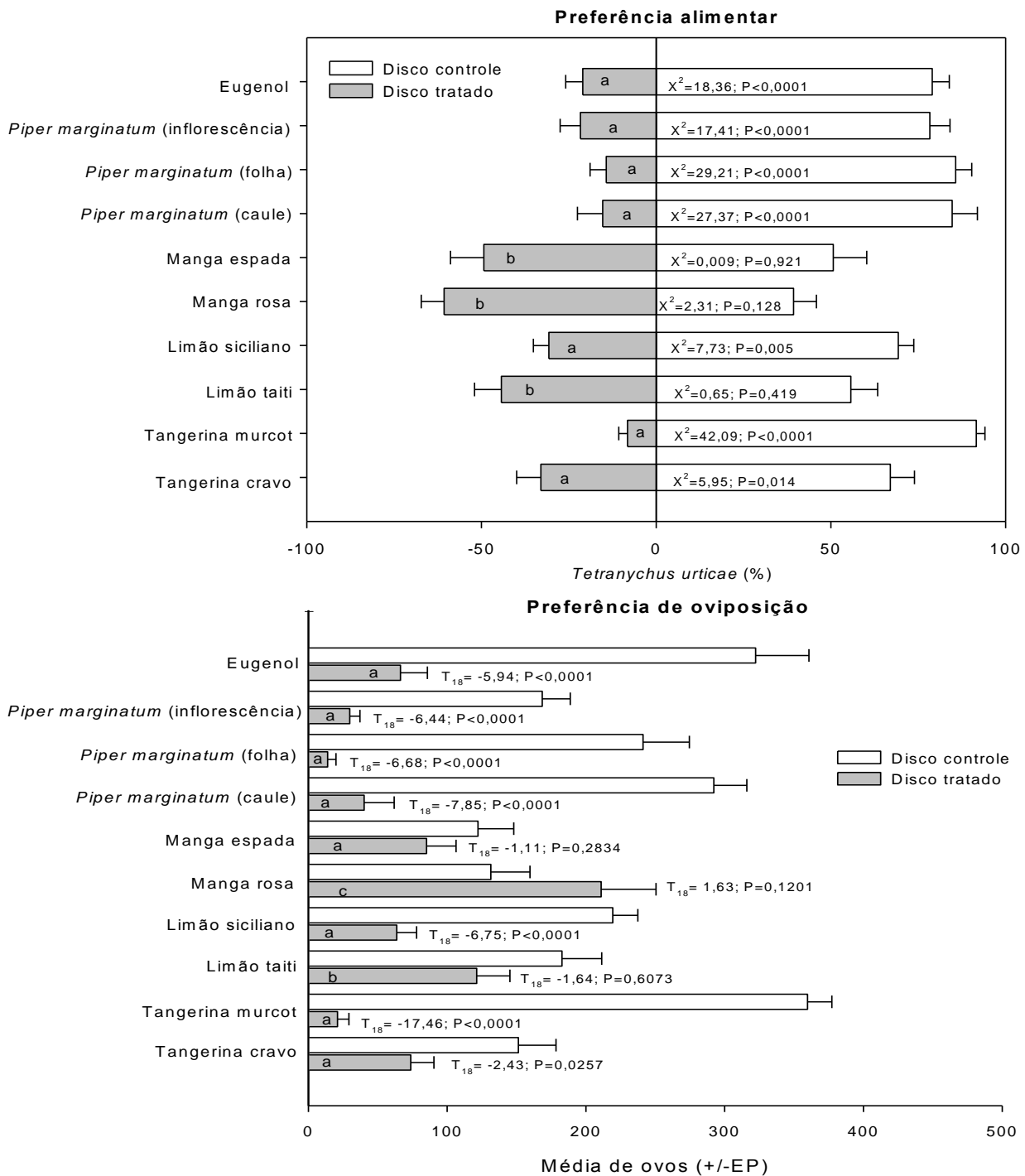


Figura 1 Preferência alimentar e Preferência de oviposição de *Tetranychus urticae* quando exposto aos óleos dos gêneros *Citrus*, *Mangifera* e *Piper*, após 48 horas. Médias \pm EP, do número de ácaros e oviposição, no disco tratado acompanhadas de letras diferentes minúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott (análise de variância) a 5% de probabilidade.

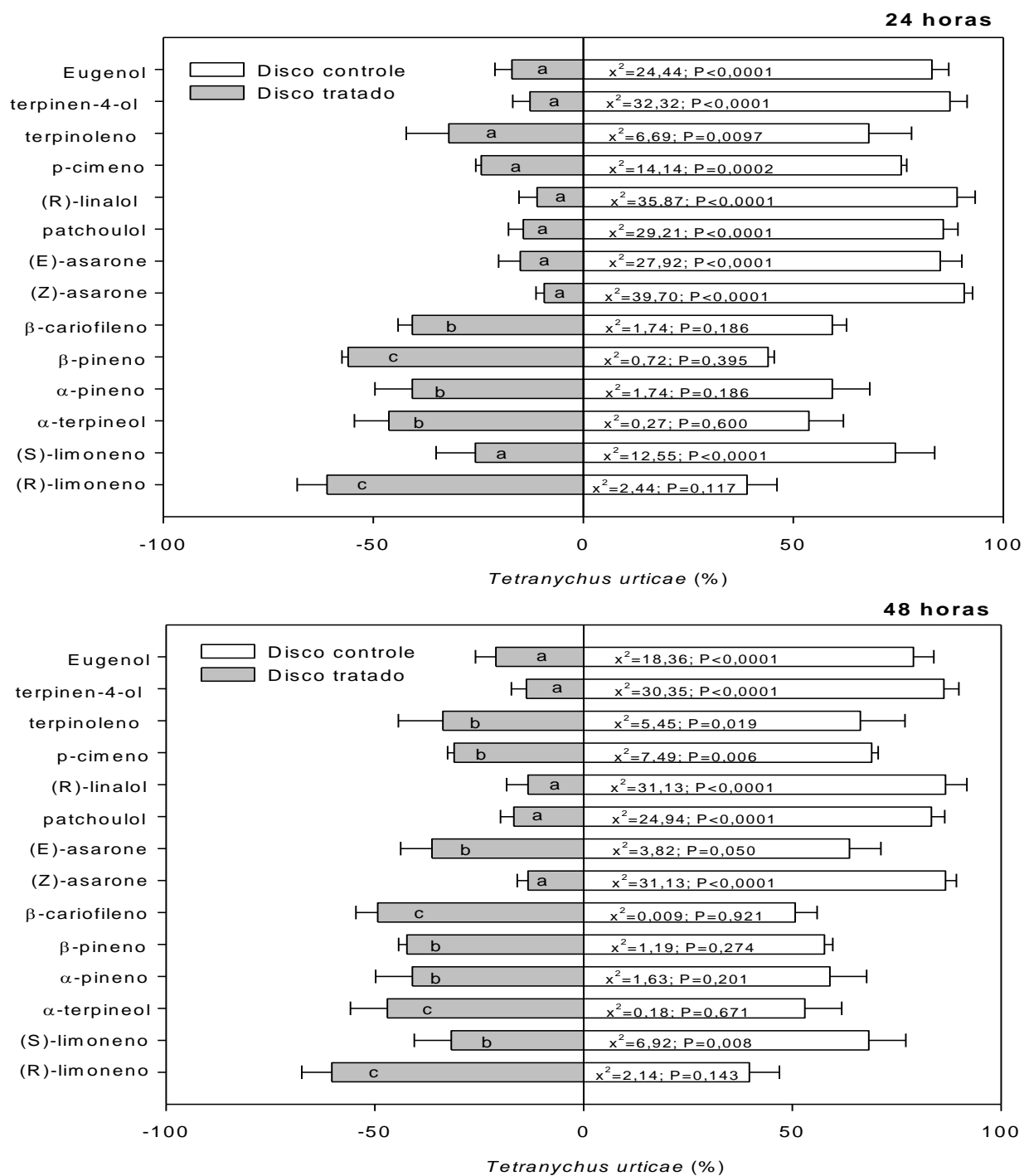


Figura 2. Preferência alimentar de *Tetranychus urticae* após 24h e 48h quando exposto aos constituintes individuais selecionados dos óleos de do gênero *Citrus*, *Mangifera* e *Piper*. Médias± EP do número de ácaros no disco tratado acompanhadas de letras diferentes minúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott (análise de variância) a 5% de probabilidade.

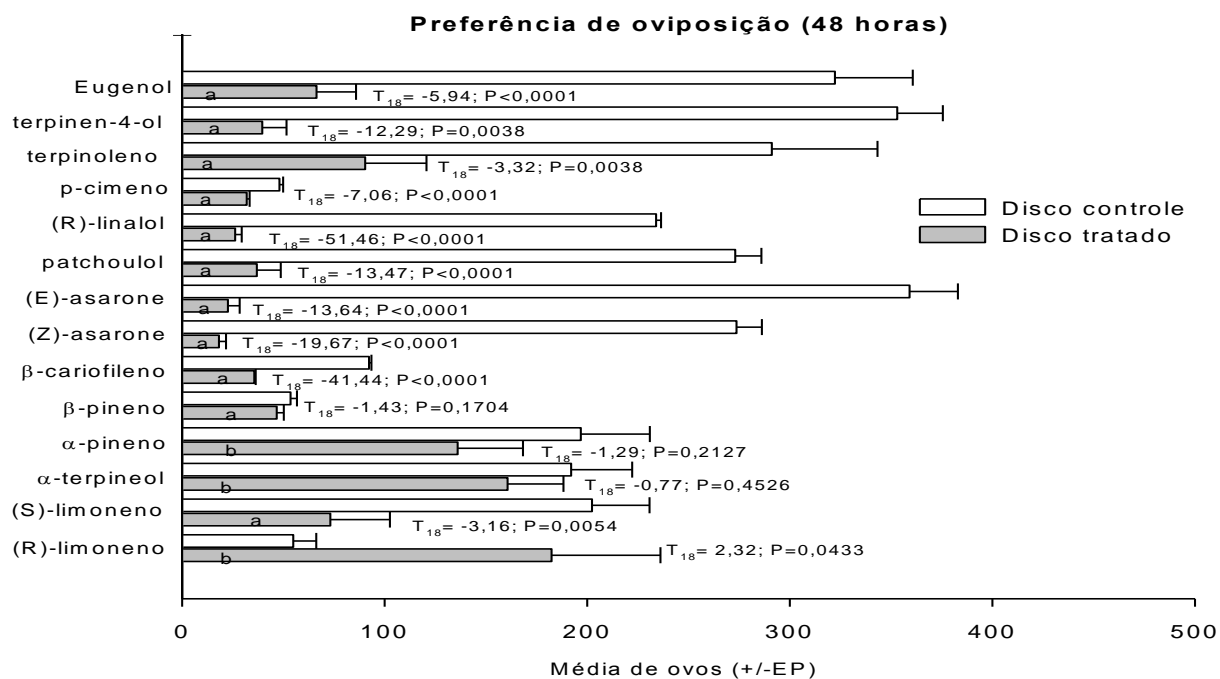


Figura 3. Preferência de oviposição de *Tetranychus urticae* após 48h quando exposto aos constituintes individuais selecionados dos óleos do gênero *Citrus*, *Mangifera* e *Piper*. Médias± EP, do número de oviposição, no disco tratado acompanhadas de letras diferentes minúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott (análise de variância) a 5% de probabilidade.

Tabela 1. Porcentagem dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das cascas das quatro espécies de *Citrus*.

Compostos	IR^a	IR^b	LT	LS	TM	TC
α -Tujeno	925	924	0,7	t	0,6	0,1
α -Pino	933	932	3,9	0,8	3,2	2,1
α -Fenmeno	941	945	t	4,0	-	-
Canfeno	954	946	t	0,3	-	-
Sabineno	970	969	-	-	1,1	2,6
β -Pino	982	974	10,2	18,9	1,7	-
Mirceno	992	988	0,6	2,6	4,7	6,7
α -Felandreno	1003	1002	-	-	-	-
P-Menta-1 (7),8-dieno	1002	1003	-	-	4,2	0,7
δ -3-Careno	1008	1008	-	-	-	-
Limoneno	1021	1024	38,9	42,4	62,2	80,2
(E)- β -Ocimeno	1052	1044	-	-	-	-
γ -Terpineno	1065	1054	-	-	-	-
n-Octanol	1075	1063	-	-	-	-
ρ -Menta – 3,8-dieno	1066	1068	t	0,3	-	-
<i>trans</i> - Oxide de linalol	1080	1084	-	-	-	-
P-Menta –2,4(8) dieno	1070	1085	5,7	1,2	10,0	1,5
Terpinoleno	1093	1086	1,3	-	1,4	0,1
Linalol	1103	1095	3,1	0,1	4,5	3,7
exo-Fenchol	1118	1118	0,2	1,1	-	-

<i>Trans</i> - ρ -Menta-2,8dien-1-ol	1126	1119	-	-	t	-
<i>cis</i> - Oxide de Limoneno	1136	1132	0,5	0,3	t	-
<i>trans</i> - Oxide de Limoneno	1140	1137	0,7	-	-	-
(E)-Miroxide	1146	1140	0,5	0,6	-	-
<i>cis</i> - β -Terpineol	1146	1140	-	-	-	-
Citronelal	1155	1148	-	-	0,1	-
Oxide de β -pinene	1151	1154	-	1,4	-	-
iso-Mentona	1154	1158	-	-	0,3	0,1
Borneol	1168	1165	0,3	-	-	-
Terpinen-4-ol	1177	1174	2,7	2,3	0,8	0,3
α -Terpineol	1191	1186	5,2	2,9	1,1	0,3
n-Decanal	1206	1201	0,3	-	1,8	0,5
Citronelol	1229	1223	-	-	-	-
<i>cis</i> -Carveol	1225	1226	0,2	-	-	-
Nerol	1234	1227	0,7	0,4	0,2	-
Metil eter timol	1233	1232	-	-	0,3	-
Neral	1246	1235	2,5	0,3	-	-
Geranial	1261	1264	0,8	2,7	-	-
Perila aldeido	1276	1269	-	-	0,2	-
Neril Formate	1276	1280	2,8	2,7	-	-
Undecanal	1305	1305	-	-	0,1	-
Limoneno aldeido	1326	1326	0,3	-	-	-
δ -Elemeno	1336	1335	0,2	-	0,1	-

Acetate de citronelila	1351	1350	-	-	t	-
Acetate de nerila	1361	1359	3,4	0,4	t	-
α -Copaeno	1374	1374	-	-	t	0,1
Acetate de geranila	1382	1379	1,2	0,4	t	-
Dauceno	1425	1380	-	-	-	0,1
β -Cubebeno	1388	1387	-	-	-	T
β -Elemeno	1389	1389	-	-	t	-
Geranato de Etila	1396	1394	-	0,8	-	-
α -Barbateno	1409	1407	0,2	0,4	-	-
Dodecanal	1405	1408	-	-	0,4	-
A- <i>cis</i> -Bergamoteno	1414	1411	0,3	-	-	-
(E)-Cariofileno	1421	1417	1,2	0,3	-	-
β -Copaeno	1427	1430	-	-	-	-
α - <i>trans</i> -Bergamoteno	1437	1432	3,0	0,3	-	-
α -Guaieno	1436	1437	-	1,2	-	-
(E)- β -Farneseno	1453	1454	0,5	3,0	0,1	-
β -Santaleno	1457	1457	0,2	-	-	-
Cumacreno	1490	1470	-	-	-	T
γ -Gurjuneno	1478	1475	-	-	-	-
Propanoato de geranila	1481	1476	0,4	0,4	-	-
γ -Muuroleno	1477	1478	-	-	0,2	0,1
(Z)-diidro-Apofarnesal	1497	1498	0,4	0,3	-	-
(E,E)- α -Farneseno	1502	1505	-	-	0,1	0,2

β -Bisaboleno	1510	1505	4,3	-	-	T
Germacreno A	1545	1508	-	-	-	T
B-Sesquifelandreno	1525	1521	-	4,2	-	-
δ -Cadinene	1529	1522	-	-	0,1	0,1
Germacreno B	1554	1559	-	-	0,2	-
Oxido de cariofileno	1583	1582	0,7	-	-	-
Humuleno epoxido II	1606	1608	0,2	1,4	-	-
Selin-11-en-4- α -ol	1653	1658	0,2	-	-	-
epi- β -Bisabolol	1666	1670	0,3	-	-	-
epi- α -Bisabolol	1682	1683	0,4	-	-	-
<i>Monoterpenos</i>			61,3	61,8	89,1	94,0
<i>Monoterpenos oxigenados</i>			25,9	25,8	7,2	4,4
<i>Sesquiterpenos</i>			9,9	9,4	0,8	0,6
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>			1,8	1,4	-	-
<i>Derivados de ácidos graxos</i>			0,3	-	2,3	0,5
<i>Benzenóides</i>			-	-	0,3	-
Total Identificados			99,2	98,4	99,7	99,5
Total Não Identificados			0,08	1,60	0,03	0,05

^aÍndice de retenção calculado pela co-injeção de uma série homóloga de n-alcanos.

^bÍndice de retenção obtido na literatura. *Citrus aurantifolia* (Limão taiti - LT), *C. limon* (Limão siciliano - LS), *C. sinensis* x *C. reticulata* (Tangerina murcot - TM), *C. reticulata* (Tangerina cravo - TC).

Tabela 2. Porcentagem dos compostos selecionados presentes nos óleos essenciais das espécies de *Citrus*, das variedades de *Mangifera indica* e nas divisões da planta de *Piper marginatum*.

	LT	LS	TM	TC	MR	ME	PMC	PMI	PMF
Rendimento	0,49	0,85	1,37	2,04	9,50	5,60	0,03	0,02	0,39
Compostos selecionados									
limoneno	38,9	42,4	62,2	80,2	1,3	1,4			
α-terpineol	5,2	2,9	1,1	0,3					0,1
α-pineno	3,9	0,8	3,2	2,1	11,5	0,8			
patchoulol							25,7	23,4	16,0
(E)-asarone							32,6	22,1	6,4
(Z)-asarone							8,5	4,5	30,4
β-pineno	10,2	18,9	1,7		40,7	1,9			0,3
(E)-cariofileno	1,2	0,3					6,8	13,1	7,5
Linalol	3,1	0,1	4,5	3,7					0,6
ρ-cimeno					0,3	0,4			
terpinoleno	1,3		1,4	0,1	28,3	73,6			
Terpinen-4-ol	2,7	2,3	0,8	0,3					

Espécies de plantas selecionadas para obtenção do óleo essencial: *C. aurantifolia* Tanaka (Limão taiti - LT), *C. limon* L. Burm f. (Limão siciliano – LS), *C. sinensis* Osbeck x *C. reticulata* Blanco (Tangerina murcot – TM), *C. reticulata* Blanco (Tangerina cravo-TC), Variedade Rosa (MR) e Espada (ME) de *Mangifera indica*, *Piper marginatum* extraído do caule (PMC), inflorescência (PMI) e folha (PMF).

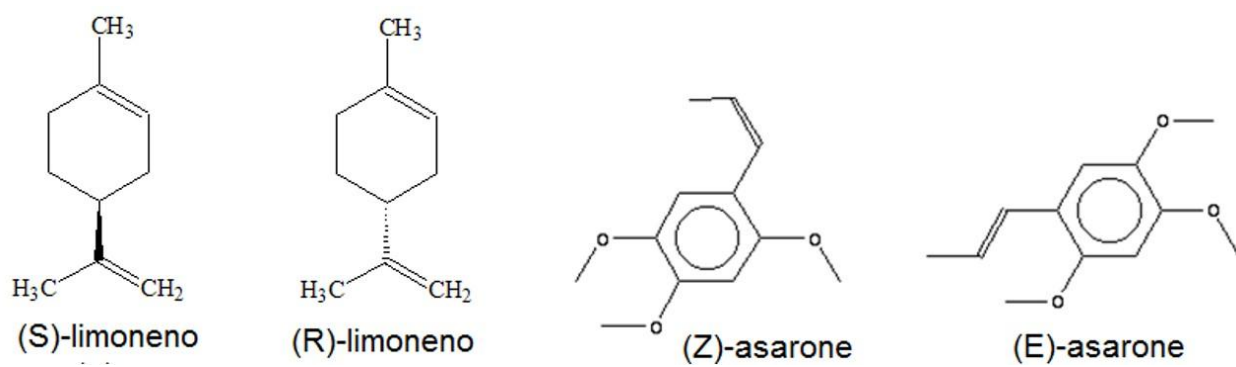


Figura 4. Fórmulas estruturais dos estereoisômeros do limoneno e asarone