

EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES NATIVAS
DE PERNAMBUCO SOBRE O ÁCARO RAJADO *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI:
TETRANYCHIDAE)

por

WENDEL JOSÉ TELES PONTES

(Sob Orientação do Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

RESUMO

O presente trabalho tem por objetivo verificar a composição química e a bioatividade dos óleos essenciais de frutos e folhas de *Protium heptaphyllum* e de *Xylopia sericea*, e os óleos das resinas velha e fresca de *Protium bahianum*, bem como o efeito de extratos vegetais de *Croton sellowii*, *C. micans*, *C. rhamnifolius*, *C. jacobinensis* e *X. sericea*, todas estas espécies nativas de Pernambuco, sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae*. O constituinte majoritário identificado no óleo essencial dos frutos de *P. heptaphyllum* foi α -terpineno (47,57%), enquanto que nas folhas foram os sesquiterpenos 9-epi-cariofileno (21,35%), *trans*-isolongifolanona (10,70%) and 14-hidroxi-9-epi-cariofileno (16,70%). O óleo dos frutos foi mais eficiente contra o ácaro, comparado com o óleo das folhas. Ambos os óleos apresentaram mortalidade e efeitos sobre a oviposição na maior concentração (10 μ L / L de ar) e apenas o óleo essencial dos frutos provocou repelência à *T. urticae*. Os óleos essenciais dos dois exsudatos resinosos de *P. bahianum* foram analisados. A resina velha mostrou alta percentagem de sesquiterpenos, contendo oxigênio (85,40%) com alta predominância de β -(Z)-santalol acetato (83,08 %). Contudo, nenhum sesquiterpeno foi detectado no óleo essencial de resina fresca, sendo este constituído basicamente de monoterpenos hidrocarbonados (42,37%) e monoterpenos oxigenados (27,71%), dos quais α -phellandrene (13,86 %) e 4-

terpineol (7,44 %) foram os componentes majoritários, respectivamente. Os óleos mostraram ação fumigante, mas somente o óleo essencial de resina fresca foi repelente. Dentre os extratos de *Croton* estudados, verificou-se que o extrato de folhas de *C. sellowii* apresentou melhor performance, causando 69% de mortalidade e apenas o extrato de folhas de *C. jacobinensis* foi inativo. A fecundidade dos ácaros também foi afetada e todos os extratos foram repelentes na concentração de 1%. Os compostos majoritários encontrados no óleo essencial dos frutos de *X. sericea* foram β -pineno e α -pineno. O óleo das folhas foi majoritariamente constituído por cubenol seguido por α -epi-muurolol. Os extratos hexânicos de frutos e os óleos essenciais de frutos e folhas foram tóxicos ao ácaro rajado. O ácido xylópico, apesar de não ter provocado mortalidade, reduziu a fecundidade do ácaro.

PALAVRAS-CHAVE: *Croton*, *Xylopi* *sericea*, *Protium*, *Tetranychus urticae*, óleo essencial, extrato vegetal, composição química, atividade acaricida

EFFECT OF PLANT EXTRACTS AND ESSENTIAL OILS OF NATIVE SPECIES OF
PERNAMBUCO ON THE TWO-SPOTTED SPIDER MITE *Tetranychus urticae* (ACARI:
TETRANYCHIDAE)

by

WENDEL JOSÉ TELES PONTES

(Sob Orientação do Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

ABSTRACT

The present work has the objective to verify the chemical composition and the bio activity of essential oils from fruits and leaves of *Protium heptaphyllum* and of *X. sericea*, and the fresh and old oil resins of *Protium bahianum*, as well as the effect of plant extracts of *Croton sellowii*, *C. micans*, *C. rhamnifolium*, *C. jacobinensis* and *Xylopi sericea*, all native species of Pernambuco, on the mite *T. urticae*. Major constituent identified in the essential oil of fruits from *P. heptaphyllum* is α -terpene (47.57 %) whereas in the leaves are the sesquiterpenes 9-epi-cariofileno (21.35 %), *trans*-isolongyfolanone (10.70 %) and 14-hydroxy-9-epi-cariofilene (16.70 %). The fruit oil is more efficient against mites in comparison with the leaf oil. Both oils show a property of mortality and deterrence in oviposition in the highest concentration ($10\mu\text{L L}^{-1}$ air) and only the essential oil of fruits induces repellence on *T. urticae*. The essential oils of the two resins of *Protium bahianum* were analysed. The old resin shows a high percentage of oxygen containing sesquiterpenes (85.40 %) with high predominance of β -(Z)-santalol acetate (83.08 %). No sesquiterpene was found in the essential oil of the fresh resin, which comprises basically monoterpenes of hydrocarbons (42.37 %) and oxygenated monoterpenes (27.71 %), from which α -phellandrene (13.86 %) and 4-terpineol (7.44 %) are the major components, respectively. The oils show toxicity against ants, but only the essential

oil of the fresh resin show repellence. Of the studied *Croton* extracts, the one of the leaves of *C. sellowii* is the most efficient, causing 69 % of mortality and only the leaf extract of *C. jacobinensis* is inactive. Mites' fecundity was affected and all extract show repellence in the concentration of 1%. The major compounds in the essential oil of fruits of *X. sericea* are β -pinene and α -pinene. The leaf oil is comprised basically by cubenol followed by α -epi-muurolol. Hexane extracts of fruits and the essential oils of fruits and leaves show toxicity against mites. The xylopic acid even not provoking mortality reduces mites' fecundity.

KEY-WORDS: *Croton*, *Xylopia sericea*, *Protium*, *Tetranychus urticae*, essential oil, plant extract

EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES NATIVAS
DE PERNAMBUCO SOBRE O ÁCARO RAJADO *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI:
TETRANYCHIDAE)

por

WENDEL JOSÉ TELES PONTES

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

RECIFE - PE

Fevereiro - 2006

EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES NATIVAS
DE PERNAMBUCO SOBRE O ÁCARO RAJADO *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI:
TETRANYCHIDAE)

por

WENDEL JOSÉ TELES PONTES

Orientador:

Cláudio Augusto Gomes da Câmara - UFRPE

Co-orientadores:

José Vargas de Oliveira - UFRPE

Manoel Guedes Corrêa Gondim Júnior - UFRPE

Examinadores:

Daniela Ferraz Navarro - UFPE

Ailton Pinheiro Lobo – UFRPE

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a

*Meus pais: Deozinete Teles Pontes e
Hilton de Araújo Pontes (in memoriam)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Providência, por me permitir concluir mais essa etapa de minha vida;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo suporte físico e financeiro.

À minha mãe Deozinete e meu irmão Wilton, por tudo que fizeram;

À Nadja, pelo companheirismo e pela presença marcante nas melhores fases de minha vida;

Ao Prof. Cláudio Câmara, pela paciência e assistência, e principalmente por ter aceito esse desafio de trabalharmos juntos; aos amigos Adelmo Lopes e Carla Assis, pela equipe que formamos;

Ao Prof. Reginaldo Barros, que sempre se colocou à disposição para qualquer coisa e sempre procurou me dar muita força nos momentos mais difíceis;

Ao Prof. Vargas, pela simpatia e estima que sempre mostrou por todos nós, além dos valiosos conselhos e opiniões;

Ao Prof. Manoel Guedes, pela assistência constante e sugestões;

Ao Prof. Jorge Torres e Antônio F. de Souza Leão Veiga, pelas sugestões no projeto;

Ao meu grande amigo Luiz Carlos, que se mostrou ser uma figura excepcional e aos colegas Aleksandre e Fabiana, pelos momentos felizes que vivemos, sem esquecer de meus colegas de turma, Adriana, Andréia, Mauricélia, Aleuny, Marco Aurélio, Ricardo;

À Suêrda e Laurici, minhas duas “irmãs”, e à Rodrigo Coitinho, pela ajuda em lidar com os dados de meu trabalho. Aos amigos Rinaldo, Robson, Indira, Fernando, Hilda, Josilene, pelo bom convívio juntos.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	8
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	11
LITERATURA CITADA	15
2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ACARICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E FRUTOS DE <i>Protium heptaphyllum</i> L. (BURSERACEAE)	22
ABSTRACT	24
RESUMO	25
INTRODUÇÃO	26
MATERIAL E MÉTODOS	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
AGRADECIMENTOS	34
LITERATURA CITADA	35
TABELAS	41
3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ACARICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE RESINAS DE <i>Protium bahianum</i> DALY SOBRE O ÁCARO-RAJADO (<i>Tetranychus urticae</i>)	45
ABSTRACT	47
RESUMO	48
INTRODUÇÃO	49

	MATERIAL E MÉTODOS	50
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
	AGRADECIMENTOS	55
	LITERATURA CITADA	56
	TABELAS	61
4	EFEITO DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE FOLHAS E CAULE DE QUATRO ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Croton</i> SOBRE O ÁCARO RAJADO <i>Tetranychus</i> <i>urticae</i> KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE).....	66
	ABSTRACT	68
	RESUMO	69
	INTRODUÇÃO	70
	MATERIAL E MÉTODOS	71
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
	AGRADECIMENTOS.....	75
	LITERATURA CITADA.....	76
	TABELAS.....	81
5	ATIVIDADE ACARICIDA DE EXTRATOS HEXÂNICOS E ÓLEOS ESSENCIAS DE FOLHAS E FRUTOS DE <i>Xylopia sericea</i> VISANDO O CONTROLE DE <i>Tetranychus urticae</i>	83
	ABSTRACT	85
	RESUMO	86
	INTRODUÇÃO	87
	MATERIAL E MÉTODOS	89
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
	AGRADECIMENTOS.....	96

LITERATURA CITADA.....	97
TABELAS.....	103

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Os inseticidas sintéticos, devido a sua alta eficiência têm sido amplamente usados no controle de pragas em diferentes culturas, de modo exclusivo, ou em programas de manejo integrado de pragas. Entretanto, sabe-se que o uso indiscriminado desses produtos prejudica os agroecossistemas, afeta as espécies-praga, bem como os organismos não-alvo (Roel 2001), além de possibilitar a seleção de populações resistentes (Goodwin *et al.* 1995, Gonçalves 1997) e contaminarem as culturas com resíduos tóxicos (Oliveira *et al.* 1999).

As substâncias químicas obtidas de espécies vegetais são uma das alternativas mais eficientes para o controle de pragas (Sopp *et al.* 1990, Pilmoor *et al.* 1993, Park *et al.* 2002, Basedow 2002, Castiglioni *et al.* 2002). Por esses motivos, esforços estão sendo empreendidos na procura de compostos de origem natural com propriedades inseticidas (Sudaram *et al.* 1995, Oliveira *et al.* 1999). Dentre os compostos naturais comprovadamente bioativos, destacam-se o piretro, extraído do crisântemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) (Trev.), a nicotina proveniente de *Nicotiana tabacum* L., a rotenona, extraída de *Derris* sp. e *Lonchocarpus* sp. e a azadiractina, isolada de *Azadirachta indica* A. Juss., muito utilizada nos dias de hoje (Roel 2001). Desde então, diversas pesquisas têm levado à identificação de inúmeras espécies vegetais com potencial inseticida, bem como na identificação de seus respectivos compostos bioativos (Viegas Júnior 2003).

É importante também o estudo da toxicidade de extratos vegetais e óleos essenciais sobre ácaros (Sudaram *et al.* 1995, Jones *et al.* 1996, Tunç & Şahinkaya 1998), pois estes são pragas

agrícolas de grande importância econômica, destacando-se o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch. Este ácaro infesta uma grande variedade de culturas economicamente importantes em todo o mundo (Potenza *et al.* 1999a, 1999b, Robinson-Vargas *et al.* 2001), como o algodoeiro, feijoeiro, morangueiro, mamoeiro, tomateiro e videira (Gallo *et al.* 2002), causando consideráveis perdas na produtividade (Barakat *et al.* 1986a). Esse ácaro tem o corpo oval, as fêmeas medindo cerca de 0,5mm e os machos 0,25mm, possuem o escudo dorsal coberto por longas setas e apresentam duas manchas escuras, uma em cada lado do dorso (Fadini *et al.* 2004). Na colonização de uma planta, as fêmeas tecem fios de seda, que adquirem a forma de uma teia. Os ovos são de difícil visualização a olho nu e são colocados preferencialmente sobre a superfície inferior da folha. Durante seu desenvolvimento passam pelas fases de ovo, larva, com três pares de patas, protoninfa, deutoninfa e adulto, com quatro pares de patas (Flechtmann 1985).

Os danos às folhas caracterizam-se pela formação de pequenas manchas cloróticas decorrentes da perfuração das células pelos seus estiletes e sucção do conteúdo celular ou citoplasmático (Flechtmann 1985), necroses, reduzindo a atividade fotossintética, seguida de secagem e queda das mesmas.

O uso de acaricidas é uma das principais formas de controle de ácaros fitófagos. Contudo, o uso desse método tem limitações, como a carência de registro para determinadas culturas, como, por exemplo, para a videira (Haji *et al.* 2002), a carência de seletividade a inimigos naturais e resistência aos acaricidas (Castiglioni *et al.* 2002). Experimentos mostraram que o ácaro-rajado foi capaz de desenvolver resistência ao acaricida fenpyroximato e resistência cruzada aos acaricidas pyridaben e dimethoato, em apenas cinco gerações. Essa resistência selecionada levou

pelo menos 12 meses para diminuir, quando não houve pressão de seleção exercida pelos acaricidas (Sato *et al.* 2004).

A procura por novas substâncias tóxicas ao ácaro-rajado é essencial para o desenvolvimento de acaricidas mais eficientes no seu controle, sendo os vegetais uma rica fonte desses compostos. Algumas plantas da família Cucurbitaceae produzem compostos secundários denominados cucurbitacinas que são tóxicas ao ácaro-rajado (Panizzi & Parra 1991). A atividade acaricida dos extratos aquosos de *Allium cepa* L., *Allium sativum* L., *Stryphnodendron barbatiman* Mart, *Solanum melogena* L. (Potenza *et al.* 1999a), *Annona* sp. (Hernández 2001), *Agave* sp., *Ruta graveolens* L. e *Dieffenbachia brasiliensis* Veitch (Potenza *et al.* 1999b) foram consideradas tóxicas a este ácaro. Derivados vegetais, como extratos orgânicos (Barakat *et al.* 1986a, Barakat *et al.* 1986b), frações lipídicas (El-Gengaihi *et al.* 1999, El-Gengaihi *et al.* 2000) e compostos isolados de vegetais, como o Colupulone, um dos componentes da planta *Humulus lupulus* L. (Jones *et al.* 1996) e o alcalóide Piperoctadecalidina, extraído de *Piper longum* L. (Park *et al.* 2002), apresentaram toxicidade ao ácaro. Formulações comerciais de plantas inseticidas, como o Neem Azal-F (Momen *et al.* 1997), Margosan-O, Neem azal-S, Azatin, (Dimetry *et al.* 1993, Sudaran & Sloane 1995, Martinez-Villar *et al.* 2005) e Nimkol (Castiglioni *et al.* 2002), são eficientes acaricidas.

Outros derivados vegetais, como os óleos essenciais, também têm potencial para serem usados como inseticidas e acaricidas fumigantes no controle de pragas instaladas em casas de vegetação (Aslan *et al.* 2004). Vapores dos óleos essenciais extraídos de *Cuminum cyminum* L., *Pimpinella anisum* L., *Origanum syriacum* var. *bevanii* (Holmes) e *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. foram tóxicos para *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Tunç & Şahinkaya 1998). O óleo essencial de 14 espécies vegetais da família Labiatae provocou alta mortalidade deste ácaro

(Mansour *et al.* 1986). Os óleos essenciais de *Micromeria fruticosa* (L.), *Nepeta racemosa* Lam. e *Origanum vulgare* L., três espécies de Lamiaceae, apresentaram toxicidade ao ácaro-rajado (Çalmaşur *et al.* 2005). O óleo essencial de *Artemisia absinthium* L. e *Tanacetum vulgare* L., extraídos por três métodos diferentes, também apresentaram ação acaricida (Chiasson *et al.* 2001).

A avaliação da atividade biológica, em especial inseticida e acaricida de espécies nativas da região Nordeste, tem por meta a obtenção de produtos naturais visando o manejo ecológico de pragas. Sendo assim, é promissor e oportuno investigar e catalogar novas espécies vegetais nativas que são fontes de possíveis compostos secundários bioativos. Dentre as espécies nativas com potencial inseticida reconhecido, destacam-se às do gênero *Croton*, da família Euphorbiaceae, comuns na área de restinga do litoral de Pernambuco. O extrato de *Croton tiglium* L., é eficiente no controle de uma grande variedade de pragas (Addor 1995). O extrato aquoso de *Croton* sp. afetou a viabilidade da fase pupal de *Plutella xylostella* L. (Torres *et al.* 2001). Um diterpeno da espécie *Croton linearis* Jacq. foi isolado e apresentou atividade inseticida contra o gorgulho da batata-doce, *Cylas formicarius elegantulus* (Summers), provocando sintomas característicos de inseticidas neurotóxicos (Alexander *et al.* 1991). Os compostos *cis*-dehydrocrotonina e *trans*-dehydrocrotonina, isoladas de *Croton cajucara* Benth, inibiram o crescimento da lagarta-rosada *Pectinophora gossypiella* (Saunders), e da lagarta-da-maçã *Heliothis virescens* (Fabricius), em dieta artificial (Kubo *et al.* 1991).

Protium heptaphyllum (Aubl.) Marchand é uma planta medicinal, que cresce abundantemente na região Amazônica e em outras partes do Brasil, em terrenos arenosos, úmidos e secos como as regiões de restinga do Nordeste brasileiro. Esta espécie é conhecida popularmente por amescla e almécega em Pernambuco (Loureiro *et al.* 1978). Na medicina

popular, esta espécie é considerada como um importante agente terapêutico, sendo utilizada como antiinflamatório, analgésico, expectorante e cicatrizante, assim como outras do mesmo gênero, sendo utilizada também na indústria de verniz e calafetagem de embarcações (Costa 1975, Corrêa 1987, Pott & Pott 1994, Siani *et al.* 1999).

O gênero *Xylopi*a é reconhecido pelas suas propriedades medicinais, dentre as quais atividade antimicrobiana (Tatsadjieu *et al.* 2003) e atividade citotóxica (Asekun & Kunle 2004). Estudos tem sido feitos para verificar o potencial de espécies deste gênero no controle de insetos e ácaros considerados pragas agrícolas (Hernández, 2001).

Certas espécies vegetais utilizadas na medicina popular também são ativas contra insetos nocivos (Roel 2001, Park *et al.* 2002), o que fez com que a busca por propriedades inseticidas nessas plantas tenha crescido bastante nos últimos anos (Alexander *et al.* 1991).

O presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito de extratos vegetais de *Croton sellowii* Baill., *C. micans* (Baill.), *C. rhamnifolius* Kunth., *C. jacobinensis* Baill. e *Xylopi*a *sericea*, e a bioatividade dos óleos essenciais de frutos e folhas de *P. heptaphyllum* e de *X. sericea*, e dos óleos das resinas velha e fresca de *P. bahianum*, todas estas espécies nativas de Pernambuco, sobre o ácaro-rajado *T. urticae*.

Literatura Citada

Literatura Citada

Addor, R.W. 1995. Insecticides, p. 3–20. In C. R. A. Godfray (ed.), *Agrochemicals from natural products*. New York, Marcel Dekker, 420p.

Alexander, I.C., O.K. Pascoe, P. Marchand & L.A.D. Williams. 1991. An insecticidal diterpene from *Croton linearis*. *Phytochemistry* 30: 1801-1803.

- Asekun, O.T. & O. Kunle. 2004.** The chemical constituents of the fruti essential oil of *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Rich from Nigeria. J. Essent. Oil-Bearing Plant. 7: 186-189.
- Aslan, İ., H. Özbek, Ö. Çalmasıur & 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.
- Barakat, A.A., G.M. Shereef, S.A. Abdallah & S.A. Amer. 1986a.** Joint action of some pesticides and plant extracts against *Tetranychus urticae* Koch. Bull. Entomol. Soc. 14: 243-249.
- Barakat, A. A., G. M. Shereef, S. A. Abdallah & S. A. Amer. 1986b.** Effect of some pesticides plant extracts on some biological aspects of *Tetranychus urticae* Koch. Bull. Entomol. Soc. 14: 225-232.
- Basedow, T. 2002.** Uso de insecticidas en agricultura de algunos países del mundo, métodos para reducir su uso y realizar una protección del cultivos más favorable para el ambiente. Natura 10: 50-58.
- Castiglioni, E., J.D. Vendramin & M.A. Tamai. 2002.** Evaluación del efecto tóxico de extractos acuosos y derivados de meliáceas sobre *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae). Agrociência 6: 75-82.
- Chiasson, H., A. Bélanger, N. Bostanian, C. Vincent & A. Poliquin. 2001.** Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. J. Econ. Entomol. 94: 167-171.
- Corrêa, M.P. 1987.** Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, p.82.
- Costa, A. F. 1975.** Farmacognosia. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 841p.
- Dimetry, N.Z., S.A.A. Amer & A.S. Reda. 1993.** Biological activity of two neem seed kernel extracts against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. J. Appl. Ent. 116: 308-312.
- El-Gengaihi, S.E., N.A. Ibrahim & S.A.A. Amer. 1999.** Chemical investigation of the lipoidal matter of *Glossostemon bruguieri* and the acaricidal activity of its unsaponifiable fraction. Acarologia 11: 199-204.

- El-Gengaihi, S., N.Z. Dimetry, S.A.A. Amer & S.M. Mohamed. 2000.** Acaricidal activity of lipoidal matter of different plant extracts against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Insect Sci. Applic.* 20: 191-194.
- Fadini, M.A.M., A. Pallini & M. Venzon. 2004.** Controle de ácaros em sistema de produção integrada de morango. *Cien. Rural.* 34: 1271-1277.
- Flechtmann, C.H.W. 1985.** Ácaros de importância agrícola. São Paulo, Nobel. 189p.
- Gallo, D.; O. Nakano, S. Silveira-Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti-Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia Agrícola*. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Gonçalves, P.A. 1997.** Eficácia de inseticidas sintéticos e naturais no controle de tripses em cebola. *Hortic. Bras.* 15: 32-34.
- Goodwi, S., G. Herron, N. Gougil, T. Wellham, J. Rophail & R. Parker. 1995.** Relationship between insecticide-acaricide resistance and field control in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) infesting roses. *J. Econ. Entomol.* 88: 1106-1112.
- Haji, F.N.P., J.A. de Alencar & F.R. Barbosa. 2002.** Pragas, p.53-63. In Lima, M.F. & W.A. Moreira (eds.), *Uva de Mesa - Fitosanidade*. Brasília, EMBRAPA Semi-Árido, 75p.
- Hernández, C.R. 2001.** Plantas contra plagas – potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. Estado do México, RAPAM, 133p.
- Jones, G., A.M. Campbell, B.J. Bye, S.P. Maniar & A. Mudd. 1996.** Repellent and Oviposition-Deterrent Effects of Hop Beta-Acids on the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae*. *Pestic. Sci.* 47: 165-169.
- Kubo, I., Y. Asaka & K. Shibata. 1991.** Insect growth inhibitory nor-diterpenes, cis-dehydrocrotonin and trans-dehydrocrotonin, from *Croton cajucara*. *Phytochemistry* 30: 2545-2546.
- Loureiro, A.A., M.F. da Silva & J.C. Alencar. 1978.** Essências madeireiras da Amazônia. Manaus, INPA. 84p.
- Mansour, F., U. Ravid, & E. Putievsky. 1986.** Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Phytoparasitica* 14: 137-142.

- Martínez-Villar, E., F.J. Sáenz-de-Cabezón, F. Moreno-Grijalba, V. Marco & I. Pérez-Moreno. 2005.** Effects of azadirachtin on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 35: 215-222.
- Momen, F.M., A.S. Reda & S.A.A. Amer. 1997.** Effect of neem Azal-F on *Tetranychus urticae* and three predacious mites of the family Phytoseiidae. *Acta Phytopathologica Entomol. Hungarica.* 32: 355-362.
- Oliveira, J.V., J.D. Vendramin & M.L. Haddad. 1999.** Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. *Rev. Agric.* 74: 217-227.
- Panizzi, A.R. & J.R.P. Parra. 1991.** Ecologia nutricional e o manejo integrado de pragas, p. 101-129. In Panizzi, A.R. & J.R.P. Parra (eds.), *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas.* São Paulo, Manole, 360p.
- Park, B., S. Lee, W. Choi, C. Jeong, C. Song & K. Cho. 2002.** Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperoctadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. *Crop. Prot.* 21: 249-251.
- Pilmoor, J.B., K. Wright & A.S. Terry. 1993.** Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. *Pestic. Sci.* 39: 131-140.
- Potenza, M.R., A.P. Takematsu & L.H. Benedicto. 1999a.** Avaliação do controle de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) através de extratos vegetais, em laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 66: 91-97.
- Potenza, M.R., A.P. Takematsu, A.P. Sivieri, M.E. Sato, C.M. Passerotti. 1999b.** Efeito acaricida de alguns extratos vegetais sobre *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) em laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 66: 31-37.
- Pott, A. & V.J. Pott. 1994.** Plantas do Pantanal. Corumbá, EMBRAPA. 320p.
- Robinson-Vargas, M., B. Chapman & D.R. Pearman. 2001.** Toxicity of thuringiensin on immature and adult stages of *Tetranychus urticae* Koch and *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae). *Agric. Tec.* 61: 3-14.
- Roel, A.R. 2001.** Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Rev. Intern. Desenv. Loc.* 1: 43-50.
- Sato, M.E., T. Miyata, M. Da Silva, A. Raga & M.F. De Souza Filho. 2004.** Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, cross-resistance and stability of fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Appl. Entomol. Zool.* 39: 293-302.

- Siani, A.C., M.F.S. Ramos, O. Menezes-de-Lima, R.O.A. Soares, E.C. Rosas, G.S. Susunaga, A.C. Guimarães, M.G.B. Zoghbi, M.G.M.O. Henriques, 1999.** Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. J. Ethnopharmacol. 66: 57-69.
- Sopp, P.I., A. Palmer & J.A. Pickett. 1990.** The effect of a plant-derived anti-feedant on *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis*: “a first look”. SROP / WPRS Bull. 13: 198-201.
- Sudaram, K.M.S., R. Campbell, L. Sloane & J. Studens. 1995.** Uptake, translocation, persistence and fate of azadirachtin in aspen plants (*Populus tremuloides* Michx.) and its effect on pestiferous two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). Crop Prot. 14: 415-421.
- Sudaram, K.M.S. & L. Sloane. 1995.** Effects of pure and formulated azadirachtin, a neem-based biopesticide, on the phytophagous spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. J. Environ. Sci. Health. 30: 801-814.
- Tatsadjieu, L.N., J.J. Essia-Ngang, M.B. Ngassoum, F.X. Etoa. 2003.** Antibacterial and antifungal activity of *Xylopiya aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum leprieurii* from Cameroon. Fitoterapia 74: 469-472.
- Torres, A.L., R. Barros, J.V. Oliveira. 2001.** Efeitos de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Neotrop. Entomol. 30: 151-156.
- Tunç, I. & Şahinkaya. 1998.** Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. Entomol. Exp. Appl. 86: 183-187.
- Viegas Júnior, C. 2003.** Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. Quim. Nova. 26: 390-400.

CAPÍTULO 2

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ACARICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E FRUTOS DE *Protium heptaphyllum* L. (BURSERACEAE)

WENDEL J. T. PONTES¹, JOSÉ C. S. DE OLIVEIRA¹, CLÁUDIO A. G. DA CÂMARA¹, ADELMO C. H. R.
LOPES¹, MANOEL G. C. GONDIM JÚNIOR², JOSÉ V. DE OLIVEIRA², REGINALDO BARROS² E
MANFRED O. E. SCHWARTZ³

¹Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

²Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

³Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50740-540 Recife, PE.

Pontes, W.J.T., Oliveira, J.C.S., Câmara, C.A.G., Lopes, A.C.H.R., Gondim Júnior, M.G.C., Oliveira, J.V., Barros, R. & Schwartz, M.O.E. Composição química e atividade acaricida do óleo essencial de folhas e frutos de *Protium Heptaphyllum* L. (Burseraceae).

RESUMO - O óleo essencial das folhas e frutos de *Protium heptaphyllum* coletada em Tamandaré-Pernambuco foi analisado por CG/EM e testado sua toxicidade e efeito repelente contra ácaro rajado (*Tetranychus urticae*). O constituinte majoritário identificado nos frutos foi α -terpineno (47,57%) enquanto que nas folhas foram os sesquiterpenos 9-epi-cariofileno (21,35%), *trans*-isolongifolanona (10,70%) and 14-hidroxi-9-epi-cariofileno (16,70%). O óleo de frutos foi mais eficiente contra o ácaro, comparado com o óleo de folhas. Ambos os óleos apresentaram mortalidade e deterrência de oviposição na maior concentração (10 μ l/l air) e apenas o óleo essencial de frutos foi repelente à *Tetranychus urticae*.

PALAVRAS-CHAVE: *Protium*, óleo vegetal, análise química, *Tetranychus urticae*, ação fumigante

CHEMICAL COMPOSITION AND ACARICIDAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL
FROM LEAFS AND FRUITS OF *PROTIUM HEPTAPHYLLUM* L. (BURSERACEAE)

ABSTRACT- Essential oils from leaves and fruits of *Protium heptaphyllum* collected on Tamandaré beach – Pernambuco/Brazil were analysed by GC/MS and tested for their toxicity and repellent effect against the two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). The major constituent identified in the fruits was α -terpinene (47.57%) whereas oil from leaf contained mainly sesquiterpenes such as 9-epi-cariophyllene (21.35%), trans-isolongifolanone (10.70%) and 14-hidroxi-9-epi-cariophyllene (16,70%). The oil from fruits was found to be more effective against the mite in comparison with the oil from leaves. Both of them shown mortality properties and oviposition deterrence in higher concentration (10 μ l/l air), but only the essential oil from fruits was repellent against *Tetranychys urticae*.

KEY WORDS - *Protium*, plant oil, chemical analysis, *Tetranychus urticae*, fumigant activity

Introdução

A família Burseraceae é reconhecida como rica fonte de exudatos e oleoresinas que contêm voláteis usados para diversos propósitos, como na indústria de perfumes. Na região neotropical, essa família é representada pelo gênero *Protium*, que compreende cerca de 135 espécies e é amplamente distribuído na América do Sul (Khalid 1983).

O estudo analógico entre a flora do Nordeste e da Amazônia brasileira constata que muitos gêneros e espécies vegetais são comuns a ambas regiões Andrade-Lima (1966). Esse paralelismo é suportado pela teoria dos refúgios, desenvolvido por Vanzolini (1970) e Ab'Saber (1970), que justificam a origem destes encaves vegetacionais devido às disjunções da Hiléa Amazônica, durante as eras glaciais, quando o clima sul-americano e mundial era muito mais seco e frio do que é hoje. Este fato propiciou o surgimento de pequenas formações florestais disjuntas no meio de uma imensa savana, isolando a flora e fauna em diferentes biomas. O ressecamento posterior e o conseqüente recuo dessa floresta seria testemunhado agora por estas formações nas regiões Nordeste e Amazônica. Portanto, alguns gêneros e espécies que ocorrem nas formações florestais em Pernambuco, estão relacionados diretamente com *taxa* que crescem na região Amazônica. É o caso do *Protium heptaphyllum* March (Burseraceae) (Loureiro *et al.* 1978).

P. heptaphyllum é uma planta medicinal, conhecida popularmente como breu, breu branco ou breu verdadeiro, cresce abundantemente na região Amazônica e em outras partes do Brasil, em terrenos arenosos, úmidos e secos como as regiões litorâneas, sobretudo em áreas de restinga do Nordeste brasileiro. Nessas áreas, a referida espécie é conhecida popularmente por amescla nos Estados do Ceará, Paraíba e Rio Grande do Norte, almesca na Bahia e amescla ou almécega em Pernambuco (Loureiro *et al.* 1978). Na medicina popular, esta espécie é

considerada como um importante agente terapêutico, sendo utilizada como antiinflamatório, analgésico, expectorante e cicatrizante. É utilizada também na indústria de verniz e calafetagem de embarcações (Costa 1975, Corrêa 1987, Pott & Pott 1994, Siani *et al.* 1999a). Outras aplicações incluem a produção de óleo de resina rica em óleos essenciais usados como incenso ou repelente de inseto (Pernet 1972, Corrêa 1987).

Vários estudos farmacológicos utilizando a oleoresina têm sido realizados com o objetivo de verificar sua eficácia terapêutica, o qual tem revelado resultados surpreendentes comprovando seu uso como antiinflamatório, anticonceptiva, antineoplásica e gastroprotetora (Siani *et al.* 1999a, Oliveira *et al.* 2004a, 2004b, 2004c). A composição do óleo extraído das partes aéreas e da resina de *P. heptaphyllum* tem sido identificada de espécies coletadas em duas regiões do Brasil: Manaus, no Norte (Zoghbi & Maia 1995, Siani *et al.* 1999a, 1999b) e Ceará, no Nordeste (Bandeira *et al.* 2001).

Devido sua alta volatilidade e possível ação fumigante, os óleos essenciais podem ser usados para o controle de pragas instaladas em casas de vegetação (Aslan *et al.* 2004). Recentemente, estudos com óleos essenciais têm sido conduzidos para verificar seu potencial inseticida (Huang *et al.* 2000, Bouda *et al.* 2001, Kim *et al.* 2003, Choi *et al.* 2005) e acaricida (Kim *et al.* 2004), uma vez que os ácaros são pragas que provocam grandes prejuízos para os agricultores. Dentre eles, destaca-se o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch, que ocorre em uma grande variedade de culturas economicamente importantes em todo o mundo (Gallo *et al.* 2002), provocando sérios problemas econômicos.

Esse trabalho descreve a composição química dos óleos essenciais de folhas e frutos de *P. heptaphyllum* de espécimes coletados na região de Restinga na Praia de Tamandaré, Pernambuco, bem como sua atividade acaricida e repelência contra o ácaro-rajado *T. urticae*.

Material e Métodos

Coleta de Material Vegetal e Extração do Óleo Essencial. Folhas e frutos de *P. heptaphyllum* foram coletadas na reserva biológica de Guadalupe, na praia de Tamandaré, litoral sul de Pernambuco, Brasil, em dezembro, 2004. Uma exsicata foi colocada no Herbário Vasconcelos Sobrinho, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), sob o número 46329. Folhas frescas e frutos imaturos foram submetidos à hidrodestilação por 2h e os óleos essenciais coletados através de aparelho tipo Clevenger modificado. Os óleos foram separados da água, secos com Na_2SO_4 e armazenados em recipientes selados à baixa temperatura. O rendimento dos óleos foi calculado com base no peso do material fresco. O procedimento da extração foi repetido três vezes.

Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa. A análise cromatográfica (GC) foi feita na Central Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Foi realizada em um Hewlett Packard 5890 SERIES equipado com detector de ionização (FID) e J & W Scientific DB-5 com coluna de capilaridade com sílica (30m x 0,25mm x 0,25 μm). A temperatura da coluna foi programada para 40°C por 2 min, variando de 220°C à 4°C min^{-1} , aumentando para 280°C à 20°C min^{-1} para integração. As temperaturas do injetor e detector foram de 250°C e 280°C, respectivamente. O hidrogênio foi usado como carreador gasoso, com um fluxo de 1,5 mL min^{-1} , (1:10). Uma solução de 1,5 μL de aproximadamente 10 mg do óleo e etil-acetato foi ministrada. O índice de retenção foi obtido aplicando uma amostra do óleo com mistura de hidrocarbonetos lineares $\text{C}_{11}\text{-C}_{24}$ (índice de retenção variando de 900 à 1099, tendo sido esta variação obtida por extrapolação). A análise do óleo foi feita usando GC/MS Shimadzu QP5050 quadrupole utilizando-se a mesma coluna e temperaturas utilizadas no experimento com

GC. O carreador gasoso foi o hélio, fluxo de 1,5 mL min⁻¹, (1:50). Aplicou-se 1µL de 1/100 da solução diluída em acetato de etila. O espectro de massa foi obtido à 70eV. A velocidade de leitura foi 0.5, scan s⁻¹ de m/z 40 à 650. Os óleos essenciais foram analisados por GC e GC/MS, e a identificação foi feita com base na comparação dos índices de retenção (Van Den Doll & Kratz 1963), bem como por comparação computadorizada do espectro de massa obtido com aqueles contidos na biblioteca de espectro de massas do NIST do banco de dados GC/MS (Adams 1995).

Criação do Ácaro. O ácaro rajado *T. urticae* utilizado para os bioensaios foi obtido da criação mantida em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.) do Laboratório de Acarologia Agrícola do Departamento de Agronomia da UFRPE a 25 ± 1°C, U.R. 65 ± 3% e fotofase de 12h. Os bioensaios para avaliação da ação fumigante e repelência dos óleos essenciais contra *T. urticae* foram realizados no Laboratório de Química de Produtos Naturais Bioativos da UFRPE, à temperatura de 25 ± 2°C, U.R. 70 ± 10% e fotofase 12h.

Teste de Fumigação. A metodologia para avaliar a ação fumigante dos óleos essenciais sobre os ácaros foi adaptada de Aslan *et al.* (2004). Recipientes de vidro com capacidade de 2,5 L foram usadas como câmaras de fumigação. Três discos de folha de feijão-de-porco (2,5cm) foram colocadas sobre discos de papel de filtro saturados com água, dentro de placas de Petri de vidro (9cm). Em cada disco de folha foram colocadas 10 fêmeas adultas do ácaro-rajado. Cada placa de Petri, contendo no total 30 ácaros, foi colocada no interior de um recipiente de vidro fechado. Os óleos essenciais foram aplicados, com auxílio de pipeta automática, em tiras de papéis de filtro (5x2cm) presas à superfície inferior da tampa dos recipientes. As doses aplicadas foram de 5, 10, 15, 20 e 25µL de cada óleo essencial, o que corresponde a uma concentração de 2, 4, 6, 8 e 10µL / L de ar, respectivamente. Nada foi aplicado na testemunha. O período de exposição aos

óleos foi de 24, 48 e 72 horas. Para cada dose e tempo de exposição, três repetições foram utilizadas, sendo cada repetição um recipiente de vidro contendo uma placa de Petri com 30 ácaros. As avaliações foram feitas ao final do período de exposição. Consideraram-se mortos os ácaros incapazes de caminhar uma distância superior ao comprimento de seu corpo após um leve toque com pincel de cerdas finas. A fecundidade foi avaliada pela contagem do número de ovos. O delineamento deste experimento foi inteiramente casualizado, e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com médias comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$), calculado pelo Software SANEST 3.0.

Teste de Repelência. O teste de repelência utilizado foi adaptado da metodologia descrita por Kogan & Goeden (1970). Discos de folha de feijão-de-porco (4,5cm) foram utilizados para avaliar a repelência dos óleos essenciais. Foram preparadas soluções etanólicas de cada óleo essencial nas concentrações de 0,25, 0,5, 0,75 e 1%. Para cada concentração, foi feito o seguinte procedimento: uma das metades do disco de folha foi imersa na solução e agitada por cinco segundos, em seguida posta para secar à temperatura ambiente. O controle foi feito pela imersão da outra metade em etanol. As metades de cada disco foram delimitadas de forma que ficasse um espaço neutro de 0,3cm entre elas, que não foi imerso em nenhuma solução. As folhas foram colocadas sobre um disco de papel de filtro sobreposto a um disco de espuma de polietileno umedecido em água, dentro de um prato plástico. 10 fêmeas adultas do ácaro-rajado foram colocadas entre as metades do disco. A avaliação foi feita após 24 horas, contando-se o número de ácaros presentes em cada metade da folha. Os ácaros encontrados na área neutra durante a avaliação foram considerados repelidos ou atraídos conforme sua proximidade com o controle ou com o tratamento. O Índice de Repelência (IR) dos óleos foi calculado de acordo com a fórmula: $IR = 2G/(G + P)$ proposta por Kogan & Goeden (1970), onde G é o número de ácaros no

tratamento e P é número de ácaros no controle. O intervalo de segurança utilizado para considerar se o óleo foi ou não repelente foi obtido a partir da média dos IR calculados e seu respectivo desvio padrão (DP). Se a média dos IR for menor que $1 - DP$, o óleo é repelente. Se a média for maior que $1 + DP$ o óleo é atraente e se a média estiver entre $1 - DP$ e $1 + DP$ o óleo é considerado neutro.

Resultados e Discussão

O melhor rendimento dos óleos essenciais foi obtido com a extração dos frutos (1,3 %, v/w). O óleo essencial de folhas, obtido com um rendimento de 0,7 % (v/w), foi amarelado, enquanto que o óleo dos frutos foi incolor. A análise do óleo por GC e GC/MS permitiu a identificação de 57 compostos, representando 98,21 e 96,68% de constituintes do óleo essencial de frutos e folhas, respectivamente. Essas análises revelaram também que os componentes majoritários das folhas foram sesquiterpenos: *trans*-9-epicariofileno (21,35%), *trans*-isolongifolanone (10,70%) e 14-hidroxi-9-epi- β -cariofileno (16,70%), enquanto que no óleo dos frutos, o monoterpene α -terpineno (47,57%) foi o constituinte principal (Tabela 1).

A investigação química dos óleos essenciais de *P. heptaphyllum*, coletados na praia de Tamandaré, Pernambuco, revelaram uma grande quantidade de sesquiterpenos (84,42%) nos óleos de folhas, enquanto que no óleo de frutos a predominância foi de monoterpenos (92,07%). Esses dados são consistentes com aqueles registrados para *P. heptaphyllum*, que crescem em diferentes regiões do Brasil. A composição do óleo de folhas de *P. heptaphyllum* do estado do Amazonas (Zoghbi & Maia, 1995) revelaram mais que 45% de sesquiterpenos, enquanto que o componente majoritário foi o β -elemeno (22,09%) e β -cariofileno (11,11%). Por outro lado, os

óleos de frutos e folhas de espécies coletadas no Ceará mostraram-se basicamente constituídas de monoterpenóides (91,6%) pela predominância do α -pineno (71,2%) e sesquiterpenos com 18,6% de β -cariofileno, respectivamente (Bandeira *et al.* 2001).

A comparação do perfil químico dos óleos essenciais de espécies de *P. heptaphyllum* encontradas aqui com aquelas registradas para amostras coletadas nos Estados do Amazonas e Ceará permitiu a identificação de quimiotipos que pertencem à mesma via biosintética do cariofileno. Para o óleo essencial de frutos, o constituinte majoritário na amostra proveniente do Ceará fazia parte da via biosintética do α -pineno, enquanto que o monoterpeno identificado como o constituinte majoritário na amostra de Pernambuco faz parte da via biosintética do α -terpineno. A quantidade e variação na composição do óleo em plantas são fortemente influenciadas pelos fatores climáticos, genéticos e parâmetros geográficos (Machado *et al.* 2003, Sinai *et al.* 2004).

Os óleos essenciais de folhas e frutos de *P. heptaphyllum* foram tóxicos ao *T. urticae*, à medida que a concentração e o período de exposição aos óleos era aumentada. Observou-se que a menor concentração de óleo necessária para provocar mortalidade significativa variou de acordo com o seu tempo de exposição.

O óleo dos frutos foi o mais tóxico ao ácaro, provocando mortalidade de 63,3% na maior concentração de 10 μ L / L de ar e no maior período de exposição, de 72h (Tabela 2). Não houve diferença estatística na mortalidade dos ácaros quando submetidos à mesma concentração do óleo de frutos por 24h ou 48h.

A maior mortalidade provocada pelo óleo essencial de folhas foi de 41,0% na concentração de 10 μ L / L de ar (Tabela 2). Contudo, não houve diferença na ação tóxica em nenhum dos três tempos observados.

A fecundidade dos ácaros também foi afetada pelos óleos essenciais. O óleo de frutos foi responsável pela menor média de ovos por disco de folha (16,0) na maior concentração, em 24h de exposição (Tabela 3). A menor concentração de óleo essencial de frutos necessária para diminuir significativamente a fecundidade dos ácaros em 24h foi de 4 $\mu\text{L} / \text{L}$ de ar. Para os tempos de 48 e 72h, a concentração 2 $\mu\text{L} / \text{L}$ de ar foi suficiente para reduzir a oviposição de maneira significativa ($P = 0.05$).

O óleo essencial de folhas ocasionou maior redução de ovos (32,0) na concentração de 10 $\mu\text{L} / \text{L}$ de ar, em 24h de exposição (Tabela 3).

De forma geral, a média de ovos colocada pelo ácaro foi maior após 48h de exposição do que em 24h. Esse resultado sugere que o ácaro, quando submetido ao óleo essencial de frutos e folhas de *P. heptaphyllum*, não pára de ovipositar, mas tem sua fecundidade reduzida.

O óleo de frutos de *P. heptaphyllum* foi o único a apresentar repelência a *T. urticae*, a uma concentração de 0,5%. Em nenhuma das concentrações testadas o óleo essencial de folhas exerceu qualquer tipo de atividade, seja repelente ou atraente. Estes resultados sugerem que existem metabólitos secundários repelentes presentes no óleo essencial de frutos que estão ausentes ou em muito pouca quantidade no óleo de folhas.

Muitos óleos essenciais têm apresentado toxicidade para ácaros. Kim *et al* (2004) verificou a atividade acaricida de óleos essenciais de 56 espécies vegetais sobre o ácaro *Dermanysus gallinae*, destacando-se *Juniperus oxycedrus* L., *Eugenia caryophyllata* Thumb, *Coriandrum sativum* L., *Cochlearia armoracia* L. e *Brassica juncea* Coss como os mais tóxicos em testes de fumigação feitos em ambientes fechados, indicando a bioatividade desses voláteis. Os óleos essenciais extraídos de *Cuminum cyminum* L., *Pimpinella anisum* L., *Origanum syriacum* var. *bevanii* (Holmes) e *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. foram considerados tóxicos para o

Tetranychus cinnabarinus (Boisduval), em testes de fumigação (Tunç & Şahinkaya 1998). Os óleos essenciais de 14 espécies vegetais da família Labiatae foram pulverizados sobre *T. cinnabarinus*, provocando alta mortalidade (Mansour *et al.* 1986).

Contra o ácaro-rajado, os óleos essenciais de *Micromeria fruticosa* (L.) Druce, *Nepeta racemosa* Lam. e *Origanum vulgare* L., três espécies da família Lamiaceae, mostraram-se tóxicos, provocando alta mortalidade (Çalmaşur *et al.* 2005). Aslan *et al.* (2004) mostrou que os óleos essenciais de *Thymus vulgaris* L., *Ocimum basilicum* L. e *Satureja hortensis* L. foram tóxicos para *T. urticae* e *Bemisia tabaci* (Genn.). O óleo essencial de *Artemisia absinthium* L. e *Tanacetum vulgare* L., também apresentaram ação acaricida para *T. urticae* (Chiasson *et al.* 2001).

Outros estudos mostraram que os óleos essenciais, além de tóxicos, também possuem propriedades repelentes (Papachristos & Stamopoulos 2002, Prajapati *et al.* 2005), bem como reduziu a fecundidade em insetos (Huang *et al.* 2000, Prajapati *et al.* 2005).

A presença de α -terpineno, como o constituinte majoritário do óleo essencial de frutos de *P. heptaphyllum*, e de outros compostos, como o α -pineno, limoneno e β -cubebeno, provavelmente contribuem para a propriedade acaricida e ação repelente demonstrada pelos óleos, bem como sua ação deterrente de oviposição. Todos estes são compostos químicos reconhecidamente bioativos. Experimentos mostraram que α -terpineno, α -pineno e limoneno, isoladamente ou na composição química de outros óleos essenciais, apresentaram propriedades inseticidas e acaricidas (Tunç & Şahinkaya 1998, Viegas-Júnior 2003, Iori *et al.* 2005, Çalmaşur *et al.* 2005). Chiasson *et al.* (2001) atribuiu pequena bioatividade ao β -cubebeno quando testou as propriedades dos óleos essenciais de *A. absinthium* e *T. vulgare* sobre *T. urticae*.

A atividade acaricida dos óleos essenciais é uma alternativa promissora para o controle de pragas. Maiores estudos devem ser realizados para avaliar o custo/benefício do uso desses óleos em larga escala. Este é o primeiro registro da atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *P. heptaphyllum*.

Agradecimentos

À CAPES pelo suporte financeiro ao primeiro autor, ao CNPq pelo suporte financeiro ao laboratório, à Rodrigo Leandro B. Coitinho pelo auxílio na análise estatística dos dados e ao Prof. Argus Vasconcelos de Almeida pela ajuda na revisão bibliográfica.

Literatura Citada

- Ab'Saber, A. N. 1970.** Províncias geológicas e domínios morfoclimáticos no Brasil. Nº 20. Geomorfologia. São Paulo. 26p.
- Adams, R.P. 1995.** Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Illinois, Allured Publishing Corporation. 468p.
- Andrade-Lima, D. 1966.** Contribuição ao estudo do paralelismo da flora amazônico-nordestina. Nº 19. Boletim Técnico do Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco. Recife, Pernambuco. 29p.
- Aslan, İ.; H. Ozbek, O. Çalmaşur & F. ŞahİN. 2004.** Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Ind. Crop Prod. 19: 167-173.
- Bandeira, P.N.; M.I.L. Machado, F.S. Cavalcanti & T.L.G. Lemos. 2001.** Essential oil composition of leaves, fruits and resin of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. J. Essent. Oil Res. 13: 33-34.
- Bouda, H.; L.A. Tapondjou, D.A. Fontem, & M.Y.D. Gumedzoe. 2001.** Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 37: 103-109.
- Chiasson, H., A. Bélanger, N. Bostanian, C. Vincent & A. Poliquin. 2001.** Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. J. Econ. Entomol. 94: 167-171.

- Choi, W-S.; B.S. Park, Y.H. Lee, D.Y. Jang, H.Y. Yoon & S.E. Lee. 2005.** Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. *Crop Prot.* 25: 398-401.
- Corrêa, M. P. 1987.** (ed) Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Vol 5. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, p.82
- Costa, A.F. 1975.** (ed) Farmacognosia, vol. 1. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. p.841-842.
- Çalmaşur, Ö., İ. Aslan & F. Şahin. 2005.** Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Ind. Crop Prod.* 23: 140-146.
- Gallo, D.; O. Nakano, S. Silveira-Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti-Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia Agrícola*. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Huang, Y.; S.L. Lam & S.H. Ho. 2000.** Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Stored Prod. Res.* 36: 107-117.
- Iori, A.; D. Grazioli, E. Gentile, G. Marano & G. Salvatore. 2005.** Acaricidal properties of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree oil) against nymphs of *Ixodes ricinus*. *Vet. Parasitol.* 129: 173-176.
- Khalid, S.A. 1983.** Chemistry of the Burseraceae, p.281-299. In P.G. Waterman & M.F. Grondon (eds.), *Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales*. New York, Academic Press.
- Kim, S. I.; J.Y. Roh, D.H. Kim, H.S. Lee & Y.J. Ahn. 2003.** Insecticidal activities of aromatic plant extract and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J. Stored Prod. Res.* 39: 293-303.
- Kim, S. I.; J.H. Yi, J.H. Tak & Y.J. Ahn. 2004.** Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Vet. Parasitol.* 120: 297-304.
- Kogan, M. & R.D. Goeden. 1970.** The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1175-1180.
- Loureiro, A.A.; M.F. da Silva & J.C. Alencar. 1978.** Essências madeireiras da Amazônia. vol. 1. Manaus, INPA, 84p.
- Machado, L.B.; M.D. Zoghbi & E.H.A. Andrade. 2003.** Seasonal variation in the composition of the essential oils from de leaves, thin branches and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) *Engl. Flavour Fragr. J.* 18: 338-341.

- Mansour, F., U. Ravid, & E. Putievsky. 1986.** Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Phytoparasitica* 14: 137-142.
- Oliveira, F.A., M. Vieira-Júnior, M.H. Chaves, F.R. Almeida, K.A. Santos, F.S. Martins, R.M. Silva, F.A. Santos & V.S.N. Rao. 2004a.** Gastroprotective effect of the mixture of α and β -amyryn from *Protium heptaphyllum*: Role of Capsaicin-Sensitive Primary Afferent Neurons. *Plant Med.* 70: 780-782.
- Oliveira, F.A., C.P. Lima-Júnior, W.M. Cordeiro, G.M. Vieira-Júnior, M.H. Chaves, F.R. Almeida, R.M. Silva, F.A. Santos & V.S.N. Rao. 2004b.** Pentacyclic triterpenoids, α , β -amyryns, suppress the scratching behavior in a mouse model of pruritus. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 78: 719-725.
- Oliveira, F.A.; G.M. Vieira-Júnior, M.H. Chaves, F.R. Almeida, M.G. Florêncio, C.P. Lima-Júnior, R.M. Martins, R.M. Silva, F.A. Santos & V.S.N. Rao. 2004c.** Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. *Pharmacol. Res.* 49: 105-111.
- Papachristos, D.P. & D.C. Stamopoulos. 2002.** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* 38: 117-128.
- Pernet, R. 1972.** *Phytochimie des Burceraceae.* *Lloydia* 35: 280-287.
- Pott, A., & V.J. Pott. 1994.** *Plantas do Pantanal.* Corumbá, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 320p.
- Prajapati, V., A.K. Tripathi, K.K. Aggarwal & S.P.S. Khanuja. 2005.** Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresour. Technol.* 96: 1749-1757.
- Siani, A.C., M.F.S. Ramos, O. Menezes-de-Lima, R.O.A. Soares, E.C. Rosas, G.S. Susunaga, A.C. Guimarães, M.G.B. Zoghbi & M.G.M.O. Henriques. 1999a.** Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *J. Ethnopharmacol.* 66: 57-69.
- Siani, A.C., M.F.S. Ramos, A.C. Guimarães, G.S. Susunaga & M.G.B. Zoghbi. 1999b.** Volatile constituents from oleoresin of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. *J. Essent. Oil Res.* 11: 72-74.
- Siani, A.C., I.S. Garrido, S.S. Monteiro, E.S. Carvalho & M.F.S. Ramos. 2004.** *Protium icicariba* as a source of volatile essences. *Biochem. Syst. Ecol.* 32: 477-489.
- Tunç, I., & Ş. Şahinkaya. 1998.** Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. *Entomol. Exp. Appl.* 86: 183-187.

Van den Dool, H., & P.H. Kratz. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A* 11: 463-471.

Vanzolini, P. E. 1970. Zoologia sistemática, geografia e origem das espécies. São Paulo, Instituto de Geografia da USP, 56p.

Viegas Júnior, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quim. Nova.* 3: 390-400.

Zoghbi, M.G.B. & J.G.S. Maia. 1995. Volatile Constituents from leaves and stems of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. *J. Essent. Oil Res.* 7: 541-543.

Tabela 1. Percentagem da composição dos óleos essenciais de frutos e folhas de *Protium heptaphyllum*

Compostos	IR Lit. ¹	IR Cal.	Frutos	Folhas
(E)-Salveno	865	867	-	0.52
α -Pineno	939	935	1.14	-
Verbeneno	967	965	1.11	-
Myrceno	991	990	2.01	-
α -Terpineno	1018	1015	47.57	-
<i>para</i> -Cymeno	1026	1021	1.52	-
β -Phellandreno	1031	1029	-	9.24
Limoneno	1031	1027	3.70	0.81
(Z)- β -Ocimeno	1040	1039	2.45	2.01
<i>trans</i> -Decahydro Naftaleno	1057	1053	0.58	-
α -Pineno Oxido	1095	1090	0.82	-
Chrysanthenona	1123	1115	1.03	-
l-Dihydro-Linalool	1134	1130	1.03	-
<i>trans</i> -Verbenol	1144	1136	1.26	-
Karahanaenona	1155	1149	1.11	-
<i>cis</i> -Pinocarveol	1183	1180	1.77	-
Verbenona	1204	1200	1.61	-
<i>para</i> -Cymen-9-ol	1206	1202	1.16	-
<i>trans</i> -Carveol	1217	1213	1.08	-
<i>trans</i> -Chrysanthenyl Acetato	1235	1230	2.51	-
(Z)-Ocimenono	1231	1231	0.45	-
(E)-Ocimenono	1239	1235	1.04	-
Perilla Aldehydo	1271	1270	1.06	-
3-Thujyl Acetato	1291	1290	0.47	-
<i>trans</i> -Ascaridolo	1301	1299	1.18	-

<i>cis</i> -Pinocarvyl Acetato	1309	1305	0.87	-
Iso-Dihydro Carveol Acetato	1325	1322	3.71	-
Terpin-4-ol Acetato	1340	1335	0.49	-
α -Terpinyl Acetato	1350	1347	5.03	-
α -Longipineno	1351	1352	1.54	-
Neryl Acetato	1365	1363	0.84	-
Carvacrol Acetato	1371	1368	1.48	0.53
Isoledeno	1373	1367	-	2.73
Linalool Isobutyrate	1374	1370	1.61	-
α -Copaeno	1376	1374	-	7.27
β -Bourboneno	1384	-	-	1.03
β -Cubebeno	1390	-	-	0.12
β -Elemeno	1391	-	-	0.13
β -Longipineno	1398	1399	3.45	-
<i>trans</i> -9-epicariofileno	1467	1467	-	21.35
γ -Muuroleno	1477	1474	-	0.61
α -Zingibereno	1495	1490	-	0.13
(<i>Z</i>)- α -Bisaboleno	1504	1501	-	3.52
δ -Cadineno	1524	1524	-	1.41
Cadina-1,4-dieno	1532	1531	-	3.13
α -Cadineno	1538	1547	-	1.04
(<i>E</i>)-Nerolidol	1564	1559	-	1.96
Carotol	1594	1590	-	0.74
Guaiol	1595	1591	-	3.68
β -Oplopenona	1606	1608	-	1.09
<i>trans</i> -Isolongifolanona	1618	1620	-	10.28
14-hidroxy-9-epi-(<i>E</i>)-Caryophylleno	1664	1660	-	16.70
Valeranona	1672	1670	-	2.01

8-Cedren-13-ol	1688	1690	-	0.69
Curcuphenol	1715	1710	-	0.68
<i>iso</i> -Longifolol	1726	1721	-	4.10
14-hydroxy- α -Muuroleno	1775	1770	-	0.70
Não identificado			3.33	1.79
<hr/>				
Total			100	100

¹Índice de Retenção (IR) calculado pelo tempo de retenção de n-alcanos em coluna DB-5.

Tabela 2. Média (\pm EP) da mortalidade de *T. urticae* submetido à ação fumigante do óleo essencial de frutos e folhas de *P. heptaphyllum* em cinco concentrações e três períodos de exposição ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Concentração ($\mu\text{L} / \text{L}$ de ar)	Mortalidade (%)					
	Frutos			Folhas		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
0	0,0 \pm 0,0aA	1,0 \pm 0,32aA	2,0 \pm 1,20aA	3,3 \pm 0,57aA	3,3 \pm 0,57aA	1,0 \pm 0,32aA
2	1,5 \pm 0,30aA	8,0 \pm 0,87aB	18,0 \pm 0,57aC	7,6 \pm 0,57aA	13,3 \pm 0,87aA	4,3 \pm 0,32aA
4	4,0 \pm 0,50aA	3,3 \pm 1,45aA	29,0 \pm 1,20aB	7,6 \pm 0,66aA	16,6 \pm 0,57aA	10,0 \pm 0,57aA
6	21,0 \pm 1,70abA	17,6 \pm 0,87abA	45,3 \pm 1,20abB	17,6 \pm 1,20abA	19,0 \pm 0,66abA	15,6 \pm 2,02abA
8	25,3 \pm 1,45bA	28,0 \pm 1,76bcA	57,6 \pm 0,87bB	21,0 \pm 0,66bcA	30,0 \pm 1,73bA	18,6 \pm 0,87bcA
10	34,6 \pm 2,33bA	43,0 \pm 1,73cAB	63,3 \pm 0,57bB	40,3 \pm 2,40cA	28,6 \pm 0,87bA	41,0 \pm 1,45cA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada óleo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).

Tabela 3. Média (\pm EP) da fecundidade (número de ovos / repetição) de *T. urticae* submetido à ação fumigante do óleo essencial de frutos e folhas de *P. heptaphyllum* em cinco concentrações e três períodos de exposição ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Concentração (μL / L de ar)	Fecundidade (ovos / repetição)					
	Frutos			Folhas		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
0	127 \pm 17,52aA	294,3 \pm 4,41aB	343,6 \pm 9,84aB	199,6 \pm 13,97aA	290,3 \pm 9,57aB	303,6 \pm 4,26aB
2	89 \pm 12,50aA	112,6 \pm 2,72bAB	129,0 \pm 4,63bB	82,6 \pm 2,40bA	102,6 \pm 0,87bAB	107,6 \pm 2,02bB
4	22 \pm 0,30bA	49,0 \pm 1,20cB	61,3 \pm 3,84cB	69,3 \pm 4,26bcA	89,6 \pm 4,98bA	89,0 \pm 6,80bA
6	18 \pm 2,60bA	27,0 \pm 2,02cdAB	25,0 \pm 0,57dB	50,6 \pm 2,51cdA	87,0 \pm 6,66bB	79,0 \pm 7,81bB
8	23,3 \pm 2,18bA	22,0 \pm 1,15dA	26,0 \pm 3,21dA	40,0 \pm 4,98cdA	55,3 \pm 3,17cAB	81,6 \pm 10,87bB
10	16,0 \pm 1,52bA	27,0 \pm 1,52dB	32,0 \pm 2,31dB	32,0 \pm 1,66dA	42,0 \pm 1,52cA	43,0 \pm 4,93cA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada óleo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).

CAPÍTULO 3

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ACARICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE RESINAS DE *Protium bahianum* DALY SOBRE O ÁCARO-RAJADO *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)

WENDEL J. T. PONTES¹, JOSÉ C. S. DE OLIVEIRA¹, CLÁUDIO A. G. DA CÂMARA¹, ADELMO C. H. R. LOPES¹, MANOEL G. C. GONDIM JÚNIOR², JOSÉ V. DE OLIVEIRA² E MANFRED O. E. SCHWARTZ³

¹Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

²Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

³Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50740-540 Recife, PE.

Pontes, W.J.T., Oliveira, J.C.S., Câmara, C.A.G., Lopes, A.C.H.R., Gondim Júnior, M.G.C., Oliveira, J.V., Barros, R. & Schwartz, M.O.E. Composição química e atividade acaricida do óleo essencial de resinas de *Protium bahianum* Daly sobre o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Nome da Revista.**

RESUMO - Os óleos essenciais de dois exsudatos resinosos de *Protium bahianum* obtidos por hidrodestilação foram analisados pela combinação das técnicas de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Foram indicados 22 e 13 componentes nos óleos essenciais da resina fresca e velha, compreendendo 95,80% e 98,60% dos óleos, respectivamente. A resina velha apresentou 85,40% de sesquiterpenos oxigenados com alta predominância de β -(Z)-santalol acetato (83,08%). Contudo, nenhum sesquiterpeno foi detectado no óleo essencial da resina fresca, sendo este constituído basicamente de monoterpenos não oxigenados (42,37%) e monoterpenos oxigenados (27,71%), dos quais α -phellandreno (13,86%) e 4-terpineol (7,44%) foram os componentes majoritários, respectivamente. A atividade acaricida dos óleos das resinas contra o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* também foi investigada. Os óleos apresentaram efeito fumigante, provocando mortalidade e redução na fecundidade, mas somente o óleo essencial de resina fresca foi repelente.

PALAVRAS-CHAVE: Ácaros, bioensaio de fumigação, β -(E)-santalol acetato, p-cymeno, α -phellandreno

CHEMICAL COMPOSITION AND ACARICIDAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL
FROM RESINS OF *Protium bahianum* DALY AGAINST THE TWO SPOTTED SPIDER
MITE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)

ABSTRACT - The essential oils from two sources of resinous exudates of *Protium bahianum* obtained by hydrodistillation were analysed by combinations of GC and MS. Twenty two and thirteen components were identified in the essential oil from fresh and aged resin, comprising 95.80 % and 98.60 %, respectively. The aged resin shows a high percentage of oxygen-containing sesquiterpenes (85.40 %) with high predominance of β -(Z)-santalol acetate (83.08 %). In contrast, no sesquiterpenes was detected in the essential oil from fresh resin and it is constituted basically by monoterpenes hydrocarbons (42,37 %) and oxygen-containing monoterpenes (27.71 %), of which α -phellandrene (13.86 %) and 4-terpineol (7.44 %) are the major components, respectively. The acaricidal activities against the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* of the isolate oils of the resins were also investigated. They show fumigant toxicity (mortality and fecundity), but only the essential oil from aged resin induced repellence.

KEY WORDS: Mites, fumigant bioassay, β -(E)-santalol acetate, *p*-cymene, α -phellandrene

Introdução

A família Burseraceae compreende 21 gêneros e 600 espécies distribuídas principalmente na América do Sul, Malásia e África (Heywood 1993). Na região neotropical, essa família é amplamente representada pelo gênero *Protium* com 135 espécies (Khalid 1983). A região Amazônica, no Brasil, é onde ocorre a maior distribuição e diversificação de espécies desta família. Contudo, espécies do gênero *Protium* podem ser facilmente encontradas no Nordeste Brasileiro, em regiões arenosas, com solo seco ou úmido, como na vegetação de restinga em Pernambuco. Espécies deste gênero são caracterizadas por exsudar resinas aromáticas, que são responsáveis pelo destaque das espécies de Burseraceae na etnobotânica nas regiões em que ocorrem. A restinga de Ariquindá no Estado de Pernambuco é constituída de árvores de espécies de *Protium*, onde as resinas coletadas do solo, na base das árvores, são usadas na medicina popular no tratamento de feridas, úlceras, como agente antiinflamatório e repelente de insetos (Pernet 1972, Corrêa 1987). Estudos farmacológicos usando o óleo da resina foram conduzidos para avaliar e comprovar sua eficácia terapêutica, mostrando resultados favoráveis no seu uso como antiinflamatório, antineoplásica, anticonceptiva e gastroprotetiva (Oliveira *et al.* 2004a, 2004b, 2004c, Siani *et al.* 1999a).

Devido à sua alta volatilidade, os óleos essenciais podem ser usados no controle de pragas instaladas em casas-de-vegetação (Aslan *et al.* 2004). Recentemente, estudos com óleos essenciais têm sido feitos para avaliar sua atividade acaricida e inseticida (Kim *et al.* 2004). Óleos essenciais de *Artemisia absinthium* L. e *Tanacetum vulgare* L. foram tóxicos ao ácaro rajado *Tetranychus. urticae* (Chiasson *et al.* 2001). Mansour *et al.* (1986) demonstraram que os óleos essenciais de algumas espécies de Labiatae repeliram e reduziram a fecundidade do ácaro *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Os óleos essenciais também são repelentes (Papachristos

& Stamopoulos 2002, Prajapati *et al.* 2005) e reduzem a fecundidade de insetos (Huang *et al.* 2000, Prajapati *et al.* 2005).

Nenhum registro foi encontrado sobre a composição química e atividade acaricida de óleos essenciais de resina de *Protium bahianum* Daly. Como parte de uma avaliação sistemática do potencial acaricida da flora do Estado de Pernambuco, o objetivo deste trabalho foi analisar a composição química e estudar as propriedades acaricidas de óleos essenciais de duas fontes de exsudatos resinosos de *P. bahianum* contra o ácaro rajado *T. urticae*.

Material e Métodos

Coleta de Material Vegetal e Extração do Óleo Essencial. Ambos os tipos de resinas (velha e fresca) de *P. bahianum* foram obtidas na Reserva Biológica de Ariquindá localizada na restinga de Ariquindá, litoral sul de Pernambuco – Brasil, em dezembro de 2004. A primeira foi coletada no solo, próxima ao espécime, e a resina fresca diretamente da planta, após terem sido feitos sulcos no tronco. As plantas foram identificadas pela Dra. Carmen Zickel da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e uma exsicata foi depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE, Recife, Brasil, sob o número 23455. O processo de obtenção dos óleos foi feito no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos da UFRPE. As resinas foram submetidas à hidrodestilação por 2 h e os óleos coletados por aparelho tipo Clevenger modificado. Os óleos foram separados da água, secos com Na₂SO₄ e armazenados em frascos selados, sob baixa temperatura antes da análise e de serem usados nos experimentos. Os rendimentos dos óleos foram calculados a partir do peso do material fresco. Todo o procedimento foi repetido três vezes.

Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa. Os óleos obtidos foram analisados na Central Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas. Utilizou-se um cromatógrafo HP 5890B SERIES II, acoplado a um espectrômetro de massas HP-5971, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida J & W Scientific DB5 (30 m x 0,25 µm). A análise cromatográfica (CG) foi obtida, utilizando-se um aparelho Hewlett Packard 5890 SERIES II equipado com um detector de ionização de chama (FID) e com uma coluna capilar de sílica fundida J & W Scientific DB-5 (30m x 0.25mm x 0.25µm); As temperaturas do injetor e detector foram, respectivamente, 290°C e 285°C. Usou-se o hélio como gás de arraste com vazão de 1 mL/min e o programa de temperatura da coluna foi 40°C (1 minuto) até 220°C a 4°C/min; 220°C (0 minuto) até 280°C a 20°C/min. Os espectros de massa foram obtidos com um impacto eletrônico de 70eV, 0,84 scan/sec de m/z 40 a 550. Hidrogênio foi usado como gás de arraste, velocidade de fluxo 1.5 mL min⁻¹, modo split (1:10). Uma solução de 1.5µL com 10mg de óleo em acetato de etila foi injectada. Os índices de retenções foram obtidos pela co-injeção do óleo com uma mistura de hidrocarbonetos lineares C₁₁-C₂₄. Os compostos foram identificados com base na comparação dos índices de retenção (Van Den Dool & Kratz 1963), com os disponíveis na literatura, seguida pela confirmação visual de padrões das massas reportados na literatura (Adams 1995), bem como pela comparação direta das sugestões de massas disponíveis na biblioteca do computador (Wiley, com 250,000 compostos).

Criação do Ácaro. O ácaro rajado *T. urticae* utilizado para os bioensaios foi obtido da criação mantida em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.) do Laboratório de Acarologia Agrícola do Departamento de Agronomia da UFRPE a 25 ± 1°C, U.R. 65 ± 3% e fotofase de

12h. Os bioensaios para avaliação da ação fumigante e repelência dos óleos essenciais contra *T. urticae* foram realizados no Laboratório de Química de Produtos Naturais Bioativos da UFRPE, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase 12h.

Teste de Fumigação. A metodologia para avaliar a ação fumigante dos óleos essenciais sobre os ácaros foi adaptada de (Tunç & Şahinkaya 1998, Aslan *et al.* 2004, Çalmaşur *et al.* 2005). Recipientes de vidro com capacidade de 2,5 L foram usadas como câmaras de fumigação. Três discos de folha de feijão-de-porco (2,5cm) foram colocadas sobre discos de papel de filtro saturados com água, dentro de placas de Petri de vidro (9cm). Em cada disco de folha foram colocadas 10 fêmeas adultas do ácaro-rajado. Cada placa de Petri, contendo no total 30 ácaros, foi colocada no interior de um recipiente de vidro fechado. Os óleos essenciais foram aplicados, com auxílio de pipeta automática, em tiras de papéis de filtro (5x2cm) presas à superfície inferior da tampa dos recipientes. As doses aplicadas foram de 5, 10, 15, 20 e 25µl de cada óleo essencial, o que corresponde a uma concentração de 2, 4, 6, 8 e 10µL / L de ar, respectivamente. Nada foi aplicado na testemunha. O período de exposição aos óleos foi de 24, 48 e 72 horas. Para cada dose e tempo de exposição, três repetições foram utilizadas, sendo cada repetição um recipiente de vidro contendo uma placa de Petri com 30 ácaros. As avaliações foram feitas ao final do período de exposição. Consideraram-se mortos os ácaros incapazes de caminhar uma distância superior ao comprimento de seu corpo após um leve toque com pincel de cerdas finas. A fecundidade foi avaliada pela contagem do número de ovos. O delineamento deste experimento foi inteiramente casualizado, e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com médias comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$), calculado pelo Software SANEST 3.0.

Teste de Repelência. O teste de repelência utilizado foi adaptado da metodologia descrita por Kogan & Goeden (1970). Discos de folha de feijão-de-porco (4,5cm) foram utilizados para avaliar a repelência dos óleos essenciais. Foram preparadas soluções etanólicas de cada óleo essencial nas concentrações de 0,25, 0,5, 0,75 e 1%. Para cada concentração, foi feito o seguinte procedimento: uma das metades do disco de folha foi imersa na solução e agitada por cinco segundos, em seguida posta para secar à temperatura ambiente. O controle foi feito pela imersão da outra metade em etanol. As metades de cada disco foram delimitadas de forma que ficasse um espaço neutro de 0,3cm entre elas, que não foi imerso em nenhuma solução. As folhas foram colocadas sobre um disco de papel de filtro sobreposto a um disco de espuma de polietileno umedecido em água, dentro de um prato plástico. 10 fêmeas adultas do ácaro-rajado foram colocadas entre as metades do disco. A avaliação foi feita após 24 horas, contando-se o número de ácaros presentes em cada metade da folha. Os ácaros encontrados na área neutra durante a avaliação foram considerados repelidos ou atraídos conforme sua proximidade com o controle ou com o tratamento. O Índice de Repelência (IR) dos óleos foi calculado de acordo com a fórmula: $IR = 2G/(G + P)$ proposta por Kogan & Goeden (1970), onde G é o número de ácaros no tratamento e P é número de ácaros no controle. O intervalo de segurança utilizado para considerar se o óleo foi ou não repelente foi obtido a partir da média dos IR calculados e seu respectivo desvio padrão (DP). Se a média dos IR for menor que $1 - DP$, o óleo é repelente. Se a média for maior que $1 + DP$ o óleo é atraente e se a média estiver entre $1 - DP$ e $1 + DP$ o óleo é considerado neutro.

Resultados e Discussão

As resinas fresca e velha apresentaram rendimentos de óleo, considerados altos, de 4,6% e 3,2%, respectivamente. Cerca de vinte e dois e treze componentes foram identificados nos óleos essenciais das resinas fresca e velha, correspondendo a 95,8% e 98,6%, respectivamente. Na Tabela 1 consta a composição química dos constituintes identificados nos óleos essenciais das duas resinas de *P. bahianum*. No óleo da resina fresca obtiveram-se monoterpenos (70%), sendo o maior grupo de constituintes, principalmente *p*-cymeno (18,28%), seguido por monoterpenos não oxigenados como α -phellandreno (13,96%), tricycleno (11,43%) e β -phellandreno (9,12%), enquanto que o óleo de resina velha constituiu de sesquiterpenos como grupo majoritário, destacando-se β -(E)-santalol acetato (83,08 %), como o principal componente.

A revisão de literatura revelou que a resina de *Protium* spp. é constituída principalmente de monoterpenos, diferentes uns dos outros. Dos monoterpenos presentes, o composto aromático *p*-cymeno (18,28 %) encontrado na resina fresca é o mais freqüente, e algumas vezes, o componente mais abundante descrito no óleo de resinas de outras espécies do gênero *Protium* (Zoghbi *et al.* 1998, Siani *et al.* 1999a, 1999b, Ramos *et al.* 2000, Bandeira *et al.* 2001, Zoghbi *et al.* 2002, Case *et al.* 2003, Machado *et al.* 2003, Siani *et al.* 2004).

A baixa concentração de monoterpenos observados no óleo de resina velha pode ser conseqüência da sua exposição ao ar, favorecendo processos oxidativos, o que resulta na perda da maioria dos componentes voláteis. Esses processos, também, favorecem a incorporação de fenilpropanóides, que em geral estão presentes em resinas velhas, mas ausentes nesse óleo estudado.

O efeito fumigante dos óleos dos exsudatos resinosos de *P. bahianum* foi considerado significativo. A eficiência aumentou diretamente com a concentração e tempo de exposição para ambos os óleos estudados. Resultados semelhantes foram encontrados por Aslan *et al.* (2004), Tunç & Şahinkaya (1998) e Çalmaşur *et al.* (2005) com óleos essenciais obtidos de outras plantas aromáticas contra espécies do gênero *Tetranychus*.

O óleo de resina fresca (10µL / L de ar) apresentou potente atividade fumigante contra *T. urticae*, provocando 79,6% de mortalidade em 72h, seguido do óleo de resina velha, com 59% de mortalidade na mesma concentração e período de exposição (Tabela 2). Avaliando o efeito na fecundidade das resinas fresca e velha, o óleo essencial da primeira foi mais eficiente com cerca de 14,0 ovos por repetição (Tabela 3). Os resultados dos testes de repelência mostraram que somente o óleo essencial da resina fresca em concentrações iguais ou maiores que 0,5% foram ativas contra *T. urticae* (Tabela 4).

Alguns estudos anteriores evidenciaram que a atividade acaricida e / ou inseticida de óleos essenciais estão relacionadas com sua composição química. Lee *et al.* (2001) obtiveram correlação entre a estrutura de monoterpenos e sua toxicidade em *Sitophilus oryzae* (L.). Os resultados descritos por Choi *et al.* (2005) indicaram que monoterpenos bicíclicos como α - e β -pineno possuem forte ação fumigante comparado com monoterpenos alicíclicos. Apesar do modo de ação dos monoterpenos bicíclicos sobre insetos e ácaros possa ser diferente, é provável que o fato do óleo de resina fresca conter basicamente monoterpenos (70 %) e que 23,97 % deles estejam relacionados com grupos bicíclicos, com o componente principal β -pineno (6,65 %), faça com que estes compostos possam apresentar efeito sinérgico com outros constituintes, justificando a atividade acaricida observada.

Os resultados deste trabalho indicam que os óleos essenciais obtidos de resinas de *P. bahianum* possuem propriedades acaricidas e podem ter grande potencial para serem usados no manejo de *T. urticae*. Este estudo tende a confirmar o uso de exsudatos resinosos de *P. bahianum* por nativos nas regiões de sua ocorrência, como repelente. Contudo, maiores estudos precisam ser feitos para se avaliar o custo / benefício do uso desses óleos em grande escala, no controle de *T. urticae* em casas-de-vegetação.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo suporte financeiro. À CAPES e CNPq pelas bolsas de estudo concedidas aos alunos Wendel J. T. Pontes e José C. S. de Oliveira, respectivamente.

Literatura Citada

- Adams, R.P. 1995.** Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Illinois, Allured Publish Corporation, 468p.
- Aslan, İ.; H. Ozbek, O. Çalmaşur & F. ŞahİN. 2004.** Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Ind. Crop Prod. 19: 167-173.
- Bandeira, P.N.; M.I.L. Machado, F.S. Cavalcanti & T.L.G. Lemos. 2001.** Essential oil composition of leaves, fruits and resin of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. J. Essent. Oil Res. 13: 33-34.
- Case, R.J., A.O. Tucker, M.J. Maciarello & K.A. Wheeler. 2003.** Chemistry and ethnobotany of commercial incense copals, copal blanco, copal oro, and copal negro, of north America. Econ. Bot. 57: 2, 189-202.
- Chiasson, H., A. Bélanger, N. Bostanian, C. Vincent & A. Poliquin. 2001.** Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. J. Econ. Entomol. 94: 167-171.

- Choi, W-S.; B.S. Park, Y.H. Lee, D.Y. Jang, H.Y. Yoon & S.E. Lee. 2005.** Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. Crop Prot. 25: 398-401.
- Corrêa, M. P. 1987.** (ed) Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Vol 5. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, p.82
- Çalmaşur, Ö., İ. Aslan & F. Şahin. 2005.** Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Ind. Crop Prod. 23: 140-146.
- Heywood, V.H. 1993.** Flowering Plants of the World. New York, Oxford University Press, 336p.
- Huang, Y.; S.L. Lam & S.H. Ho. 2000.** Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). J. Stored Prod. Res. 36: 107-117.
- Khalid, S.A. 1983.** Chemistry of the Burseraceae, p.281-299. In P.G. Waterman & M.F. Grundon (eds.), Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales. New York, Academic Press.
- Kim, S.I., J. H. Yi, J.H. Tak & Y. J. Ahn. 2004.** Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Vet. Parasitol. 120: 297-304.
- Kogan, M. & R.D. Goeden. 1970.** The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 63: 1175-1180.
- Lee, S.E., B.H. Lee, W.S. Choi, B.S. Park, J.G. Kim & B.C. Campbell. 2001.** Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.). Pest. Manag. Sci. 57: 548-553.
- Machado, L.B.; M.D. Zoghbi & E.H.A. Andrade. 2003.** Seasonal variation in the composition of the essential oils from the leaves, thin branches and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) Engl. Flavour Fragr. J. 18: 338-341.
- Mansour, F., U. Ravid, & E. Putievsky. 1986.** Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. Phytoparasitica 14: 137-142.
- Oliveira, F.A., M. Vieira-Júnior, M.H. Chaves, F.R. Almeida, K.A. Santos, F.S. Martins, R.M. Silva, F.A. Santos & V.S.N. Rao. 2004a.** Gastroprotective effect of the mixture of α and β -amyrin from *Protium heptaphyllum*: Role of Capsaicin-Sensitive Primary Afferent Neurons. Plant Med. 70: 780-782.
- Oliveira, F.A., C.P. Lima-Júnior, W.M. Cordeiro, G.M. Vieira-Júnior, M.H. Chaves, F.R. Almeida, R.M. Silva, F.A. Santos & V.S.N. Rao. 2004b.** Pentacyclic triterpenoids, α,β -

amyryns, suppress the scratching behavior in a mouse model of pruritus. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 78: 719-725.

Oliveira, F.A.; G.M. Vieira-Júnior, M.H. Chaves, F.R. Almeida, M.G. Florêncio, C.P. Lima-Júnior, R.M. Martins, R.M. Silva, F.A. Santos & V.S.N. Rao. 2004c. Gastoprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. *Pharmacol. Res.* 49: 105-111.

Papachristos, D.P. & D.C. Stamopoulos. 2002. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* 38: 117-128.

Pernet, R. 1972. *Phytochimie des Burceraceae.* *Lloydia* 35: 280-287.

Prajapati, V., A.K. Tripathi, K.K. Aggarwal & S.P.S. Khanuja. 2005. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresour. Technol.* 96: 1749-1757.

Ramos, M.F.S., A.C. Siani, M.R.R. Tappin, A.C. Guimarães & J.E.L.S. Ribeiro. 2000. Essential oils from oleoresins of *Protium spp.* of the Amazon region. *Flav. Fragr. J.* 150: 383-387.

Siani, A.C., M.F.S. Ramos, O. Menezes-de-Lima, R.O.A. Soares, E.C. Rosas, G.S. Susunaga, A.C. Guimarães, M.G.B. Zoghbi & M.G.M.O. Henriques. 1999a. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *J. Ethnopharmacol.* 66: 57-69.

Siani, A.C., M.F.S. Ramos, A.C. Guimarães, G.S. Susunaga & M.G.B. Zoghbi. 1999b. Volatile constituents from oleoresin of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. *J. Essent. Oil Res.* 11: 72-74.

Siani, A.C., I.S. Garrido, S.S. Monteiro, E.S. Carvalho & M.F.S. Ramos. 2004. *Protium icicariba* as a source of volatile essences. *Biochem. Syst. Ecol.* 32: 477-489.

Tunç, I., & Ş. Şahinkaya. 1998. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. *Entomol. Exp. Appl.* 86: 183-187.

Van den Dool, H., & P.H. Kratz. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A* 11: 463-471.

Zoghbi, M.G.B., E.H.A. Andrade, A.S. Santos, A.I.R. Luz & J.G.S. Maia. 1998. Volatile constituents of the resins from *Protium subserratum* (Engl.) Engl. and *Tetragastris panamensis* (Engl.) Kuntz. *J. Essent. Oil Res.* 10: 325-326.

Zoghbi, M.G.B., E.H.A. Andrade & J.G.S. Maia. 2002. Composition of the essential oils from leaves, wood, fruits and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) Engl. . *J. Essent. Oil Res.* 14: 169-171.

Tabela 1. Composição química dos voláteis identificados em resinas de *P. bahianum*.

Compostos	RI ¹	Resina fresca %	Resina velha %
Tricycleno	922	11,43	-
Sabineno	972	1,21	-
β -pineno	985	6,65	-
α -phellandreno	1001	13,96	-
<i>p</i> -cymeno	1026	18,28	-
Sylvestreno	1027	-	0,76
β -phellandreno	1028	9,12	-
1, 8-cineole	1030	1,49	-
<i>trans</i> -pinocarveol	1136	2,36	1,03
Câmfora	1140	3,42	-
<i>trans</i> -verbenol	1141	1,67	3,27
Borneol	1168	2,24	1,12
4-terpineol	1172	7,44	2,22
<i>p</i> -cymen-8-ol	1185	1,29	-
α -terpineol	1187	1,00	0,92
Myrtenal	1196	1,28	-
Myrtenol	1198	1,94	1,56
Verbenone	1208	2,03	-
<i>trans</i> -piperitol	1211	1,13	-
octanol acetato	1216	1,03	-
Nordavanone	1234	2,78	-
Veloutone	1305	2,31	-
Isso-verbanol acetato	1308	1,71	-
α -copaene	1378	-	1,97
δ -cadineno	1527	-	0,39

α -(Z)-santalol acetato	1788	-	0,27
(Z)-bergamotol acetato	1803	-	1,40
β -(Z)-santalol acetato	1828	-	0,65
β -(E)-santalol acetato	1873	-	83,08
Total		95,77	98,64

¹Índice de Retenção. Os valores foram calculados de acordo com o tempo de retenção em relação a n-alcanos em coluna capilar DB5, 30m.

Tabela 2. Média (\pm EP) da mortalidade de *T. urticae* submetido à ação fumigante do óleo essencial de resinas fresca e velha de *P. bahianum* em cinco concentrações e três períodos de exposição ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Concentração (μL / L de ar)	Mortalidade (%)					
	Resina fresca			Resina velha		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
0	2,0 \pm 0,66aA	2,0 \pm 0,66aA	3,0 \pm 0,57aA	2,2 \pm 0,66aA	0,0 \pm 0,0aA	1,1 \pm 0,32aA
2	4,0 \pm 0,32aA	4,0 \pm 0,32aA	4,0 \pm 0,32abA	3,3 \pm 0,57aA	1,1 \pm 0,32aA	13,3 \pm 0,57bB
4	8,6 \pm 0,32abA	18,6 \pm 0,32bB	16,3 \pm 0,57bB	7,7 \pm 0,32abA	5,5 \pm 0,87aA	14,4 \pm 0,66bcA
6	14,0 \pm 0,32abA	34,3 \pm 0,87cB	30,6 \pm 0,87cB	16,6 \pm 0,57bAB	9,9 \pm 0,99abB	25,5 \pm 0,87cA
8	24,0 \pm 1,20bcA	39,6 \pm 0,57cB	47,6 \pm 1,20dB	29,9 \pm 0,57cA	21,0 \pm 0,87bA	53,2 \pm 0,57dB
10	38,6 \pm 2,02cA	55,3 \pm 0,87dA	79,6 \pm 1,15eB	31 \pm 0,66cA	43,2 \pm 1,15cA	59,9 \pm 1,15dB

Médias seguidas de letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada óleo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P = 0.05$).

Tabela 3. Média (\pm EP) da fecundidade (número de ovos / repetição) de *T. urticae* submetido à ação fumigante do óleo essencial de resinas fresca e velha de *P. bahianum* em seis concentrações e três períodos de exposição ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Concentração (μL / L de ar)	Fecundidade (número de ovos / repetição)					
	Resina fresca			Resina velha		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
0	232,2 \pm 9,01aA	286,6 \pm 14,98aA	311,0 \pm 14,04aA	210,6 \pm 1,76aA	248,0 \pm 7,56aB	355,0 \pm 7,66aC
2	104,0 \pm 4,50bA	200,3 \pm 5,20bB	255,6 \pm 4,90bC	102,0 \pm 3,05bA	146,3 \pm 4,33bB	297,0 \pm 6,42bC
4	88,3 \pm 4,25bA	99,3 \pm 3,66cAB	108,6 \pm 3,57cB	92,6 \pm 2,18bA	75,0 \pm 2,51cA	186,3 \pm 9,02cB
6	52,3 \pm 4,48cA	45,3 \pm 5,66dA	39,3 \pm 1,66dA	54,0 \pm 4,61cA	62,0 \pm 2,64cA	95,6 \pm 7,21dB
8	34,6 \pm 2,72cA	32,6 \pm 5,80dA	32,6 \pm 3,57dA	33,3 \pm 3,37dAB	38,6 \pm 4,69dA	23,3 \pm 0,87eB
10	29,0 \pm 4,04cA	13,3 \pm 1,76dB	14,0 \pm 1,15dB	29,0 \pm 2,64dA	24,6 \pm 2,02dAB	19,3 \pm 0,87eB

Médias seguidas de letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada óleo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P = 0.05$).

Tabela 4. Efeito repelente de quatro diferentes concentrações do óleo essencial de resinas fresca e velha de *P.bahianum* sobre o ácaro *T. urticae* ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Óleo essencial da resina	Concentração (%)	Média (\pm DP ²) dos Índices de Repelência ¹	Efeito
Fresca	0,25	$0,58 \pm 0,46$	Neutro
	0,50	$0,19 \pm 0,08$	Repelente
	0,75	$0,53 \pm 0,33$	Repelente
	1,00	$0,11 \pm 0,53$	Repelente
Velha	0,25	$1,32 \pm 0,49$	Neutro
	0,50	$1,09 \pm 0,68$	Neutro
	0,75	$0,60 \pm 0,38$	Neutro
	1,00	$0,90 \pm 0,26$	Neutro

¹Índice de Repelência calculado de acordo com a fórmula descrita por Kogan & Goeden (1970)

DP = Desvio Padrão

CAPÍTULO 3

EFEITO DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE FOLHAS E CAULE DE QUATRO ESPÉCIES
DO GÊNERO *Croton* SOBRE O ÁCARO-RAJADO *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI:
TETRANYCHIDAE)

WENDEL J. T. PONTES¹, JOSÉ C. S. DE OLIVEIRA¹, CLÁUDIO A. G. DA CÂMARA¹, CARLA P. DE O.
ASSIS¹, MANOEL G. C. GONDIM JÚNIOR², JOSÉ V. DE OLIVEIRA² E REGINALDO BARROS²

¹Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

²Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

Pontes, W.J.T., J.C. S. Oliveira, C.A.G. Câmara, C.P. O. Assis, M. G.C. Gondim Júnior, J.V. Oliveira & R. Barros. efeito de extratos etanólicos de folhas e caule de quatro espécies do gênero *Croton* sobre o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* koch (Acari: Tetranychidae). **Nome da Revista**

RESUMO - O ácaro rajado *Tetranychus urticae* é uma das principais pragas agrícolas, infestando importantes culturas como o algodoeiro, videira e tomateiro. Nos últimos anos, o estudo de extratos vegetais objetivando o controle alternativo de pragas tem-se intensificado, tornando-se uma alternativa promissora, atraindo o interesse de um número cada vez mais crescente de pesquisadores. Este trabalho teve como objetivo avaliar a mortalidade provocada por extratos etanólicos a 1% de folhas e ramos de quatro espécies do gênero *Croton* (*Croton rhamnifolius*, *C. sellowii*, *C. jacobinensis* e *C. micans*) sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae*. Discos de folhas com os ácaros foram previamente imersos por cinco segundos nos extratos. Verificou-se que o extrato de folhas de *C. sellowii* foi o mais eficiente, causando 69% de mortalidade e apenas o extrato das folhas de *C. jacobinensis* foi inativo. Os experimentos revelaram ainda que a fecundidade dos ácaros foi afetada e que todos os extratos foram repelentes na concentração de 1%.

PALAVRAS-CHAVE: Extratos vegetais, *Tetranychus urticae*, atividade acaricida, repelência

EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACTS OF LEAVES AND STEMS OF FOUR SPECIES OF
THE GENUS *Croton* ON THE TWO SPOTTED SPIDER MITE *Tetranychus urticae* KOCH
(ACARI: TETRANYCHIDAE)

ABSTRACT - The two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch is one of the principal agricultural pests, infesting important cultures like cotton, grapevine and tomato. In the last years, studies of plant extracts having as objective an alternative weed control are being more intensified, show that there is a promising alternative and attract the interest of a growing number of scientists. The present work has the aim to evaluate the residual effect of ethanol extract at 1% of stem and leaves of four species of genus *Croton* (*Croton rhamnifolius*, *C. sellowii*, *C. jacobinensis*, *C. micans*) on the spider mite *T. urticae*. Leaf disks with the mites were immersed for five seconds in the extracts. It could be verified that the leaf extract of *C. sellowii* was the most efficient, causing 69 % of mortality and only the leaf extract *C. jacobinensis* was inactive. The experiments let conclude that the mites' fecundity was affected and that the extract were repellent at a concentration of 1 %.

KEY WORDS: Plant extracts, *Tetranychus urticae*, acaricidal activity, repellence

Introdução

O uso indiscriminado de inseticidas sintéticos nas lavouras tem causado sérios danos ao ambiente (Roel 2001). Por esses motivos, esforços estão sendo empreendidos na procura de compostos de origem natural com propriedades inseticidas (Sudaram *et al.* 1995, Oliveira *et al.* 1999). Neste contexto, destaca-se também o estudo dos efeitos tóxicos de extratos vegetais sobre ácaros fitófagos (Sudaram *et al.* 1995, Jones *et al.* 1996). Dentre eles, destaca-se o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch, que é considerado uma das mais importantes pragas agrícolas, infestando culturas como o algodoeiro, o tomateiro e a videira (Flechtmann 1985, Gallo *et al.* 2002).

Como alternativa aos inseticidas sintéticos, os extratos vegetais têm sido bastante investigados como fonte de substâncias bioativas (Barakat *et al.* 1986a, 1986b, Potenza *et al.* 1999a, 1999b). Dentre as espécies nativas com potencial inseticida reconhecido, destacam-se as do gênero *Croton*. Espécies deste gênero são comuns em vários biomas do estado de Pernambuco. As espécies de *Croton* são conhecidas popularmente por marmeleiro ou velame e muitas delas são usadas como plantas medicinais no tratamento da hipertensão, úlceras ou como anti-inflamatórios (Maciel *et al.* 2000, Galdir *et al.* 2003, Nadir *et al.* 2003, Suárez *et al.* 2003, Guerrero *et al.* 2004, Lopes e Lopes *et al.* 2004). A busca por propriedades inseticidas em plantas medicinais tem crescido, tornando-se numa forma promissora na descoberta de novas espécies vegetais inseticidas (Alexander *et al.* 1991, Roel 2001, Park *et al.* 2002). A partir de duas espécies, *Croton cajucara* Benth e *C. linearis* Jacq. com propriedades medicinais comprovadas (Maciel *et al.* 2000, De Almeida *et al.* 2003, Guerrero *et al.* 2004) foram isolados metabólitos secundários com propriedades inseticidas (Kubo *et al.* 1991, Alexander *et al.* 1991).

De acordo com o levantamento bibliográfico, nenhum trabalho foi publicado sobre a ação acaricida das espécies.

Como parte de um estudo sistemático da avaliação do potencial acaricida da flora de Pernambuco, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito dos extratos etanólicos do caule e folhas de *C. jacobinensis* Baill., *C. sellowii* Baill., *C. rhamnifolius* Kunth. e *C. micans* (Baill.) sobre o ácaro-rajado *T. urticae*.

Material e Métodos

Material Vegetal e Obtenção dos Extratos. As espécies vegetais selecionadas para estudo foram: *C. jacobinensis*, *C. rhamnifolius*, *C. micans* e *C. sellowii*. Folhas e caule das três primeiras espécies foram coletadas na área de Brejo de Altitude em Brejo da Madre de Deus, Caruaru - PE, enquanto que a última foi coletada na área de restinga do litoral sul de Pernambuco na praia de Gaibú, município de Cabo de Santo Agostinho - PE. As espécies foram identificadas pela especialista MSc. Fátima Lucena da UFRPE. As exsiccatas de cada exemplar coletado foram depositadas sob os números: #45553 (*C. jacobinensis*); #45552 (*C. rhamnifolius*); #45209 (*C. micans*) e #45622 (*C. sellowii*) no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE. Os extratos foram preparados à temperatura ambiente no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos da UFRPE. Caule e folhas das espécies foram secos à temperatura ambiente, triturados, pesados e macerados com etanol por 24 h. O procedimento foi repetido três vezes para assegurar uma melhor extração dos constituintes solúveis em etanol. O sistema foi filtrado e o etanol evaporado à pressão reduzida com auxílio de um rota-evaporador para obtenção do extrato bruto.

Criação do Ácaro *T. urticae*. O ácaro rajado *T. urticae* utilizado para os bioensaios foi obtido da criação mantida em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.) do Laboratório de Acarologia Agrícola do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, U.R. $65 \pm 3\%$ e fotofase de 12h.

Atividade Acaricida dos Extratos. Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE, à temperatura de $25 \pm 5^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 8\%$ e fotofase de 12h. Os extratos brutos do caule e folha das espécies foram dissolvidos em etanol, de forma a se obter uma solução a 1%. Discos de folhas de feijão de porco de 2,5 cm de diâmetro foram mergulhadas por 5s nas soluções e colocadas para secar à temperatura ambiente. Foram usadas duas testemunhas: uma onde o disco de folha foi mergulhado em etanol e outra em água destilada. Em seguida, os discos foram dispostos em papel de filtro sobre uma espuma de polietileno umedecida com água e mantidos em bandejas plásticas. Em cada disco tratado foram colocados 10 fêmeas adultas do ácaro-rajado obtidas da criação. Para cada tratamento, foram feitas dez repetições. A avaliação da mortalidade e oviposição foi feita diariamente, por 72 horas. Foram considerados mortos os ácaros que não se movimentavam a uma distância superior ao comprimento de seu próprio corpo, depois de um leve toque com um pincel de cerdas finas. O experimento foi constituído de 10 tratamentos, sendo duas testemunhas e dois extratos de cada uma das quatro espécies utilizadas, e cada tratamento com 10 repetições, no delineamento inteiramente casualizado. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$) através do software SANEST.03.

Repelência dos Extratos. O teste de repelência utilizado foi adaptado da metodologia descrita por Kogan & Goeden (1970). Discos de folha de feijão-de-porco (4,5cm) foram utilizados para avaliar a repelência dos extratos vegetais. Foram preparadas soluções etanólicas de cada extrato a

1%. Foi feito o seguinte procedimento: uma das metades do disco de folha foi imersa na solução e agitada por cinco segundos, em seguida posta para secar à temperatura ambiente. O controle foi feito pela imersão da outra metade em etanol. As metades de cada disco foram delimitadas de forma que ficasse um espaço neutro de 0,3cm entre elas, que não foi imerso na solução nem em etanol. As folhas foram colocadas sobre um disco de papel de filtro sobreposto a um disco de espuma de polietileno umedecido em água, dentro de um prato plástico. Dez fêmeas adultas do ácaro-rajado foram colocadas entre as metades do disco. A avaliação foi feita após 24 horas, contando-se o número de ácaros presentes em cada metade da folha. Os ácaros encontrados na área neutra durante a avaliação foram considerados repelidos ou atraídos conforme sua proximidade com a testemunha ou com o tratamento. O Índice de Repelência (IR) dos extratos foi calculado de acordo com a fórmula: $IR = 2G/(G + P)$ proposta por Kogan & Goeden (1970), onde G = número de ácaros no tratamento e P = número de ácaros na testemunha. O intervalo de segurança utilizado para classificar os extratos foi obtido a partir da média dos IR calculados e seu respectivo desvio padrão (DP). Se a média dos IR for menor que $1 - DP$, o extrato é considerado repelente, se a média for maior que $1 + DP$ o extrato é atraente e se a média estiver entre $1 - DP$ e $1 + DP$ o extrato é considerado neutro.

Resultados e Discussão

O extrato etanólico de folhas de *C. sellowii* foi o mais tóxico para o ácaro rajado, ocasionando uma mortalidade média de 69% num intervalo de 72 horas de exposição. O extrato menos eficiente foi o do caule de *C. sellowii*, que promoveu uma mortalidade média de 6%. Os extratos de folhas e do caule de *C. jacobinensis*, respectivamente, 9% e 13%, não diferiram

estatisticamente da testemunha a $P = 0.05$. A toxicidade dos extratos de folhas de *C. jacobinensis* (9%), *C. micans* (45%) e *C. rhamnifolius* (53%) não diferiram de forma significativa de seus extratos de caule, 13%, 40% e 60%, respectivamente.

A fecundidade dos ácaros também foi afetada. O extrato de folhas de *C. sellowii* apresentou o melhor resultado, ocasionando a menor média de ovos (49,4/disco de folha) (Tabela 1). O único extrato que não diferiu estatisticamente da testemunha foi o de caule de *C. jacobinensis*. Também, não houve diferença na média de ovos colocados pelo ácaro quando submetidos ao extrato do caule (118,0/disco de folha) e da folha (160,0/disco de folha) de *C. rhamnifolius*, a $P = 0,05$. O mesmo foi observado para os extratos de folha (169,0/disco de folha) e do caule (179,0/disco de folha) de *C. micans*. Todos os extratos, independente da espécie foram repelentes na concentração de 1% (Tabela 2).

A diferença entre a toxicidade dos extratos obtidos de caule e folhas de uma mesma espécie vegetal também foi observada por Castiglioni *et al.* (2002) para os extratos aquosos a 5% das sementes e dos ramos de *Azadirachta indica*. É comum que diferentes partes de um vegetal apresentem diferenças qualitativas ou quantitativas com relação aos constituintes químicos (Bernays & Chapman 1994). A diferença observada entre a toxicidade dos extratos de *C. sellowii* sugere a existência de metabólitos secundários acaricidas presentes apenas nas folhas e/ou em maior quantidade do que no extrato do caule. Essa hipótese é sustentada pelos resultados obtidos por El-Gengaihi *et al.* (1999), que avaliando o efeito acaricida de folhas, sementes e raízes de *Glosostemon bruguieri* (Desf.), observaram que certos hidrocarbonetos presentes nas folhas foram os responsáveis pela maior toxicidade, e que estes hidrocarbonetos não foram detectados nas sementes e raízes.

Diversos outros trabalhos tem confirmado a eficiência de extratos vegetais em

concentrações iguais a 1%, como observado para as espécies de *Croton* testadas. Formulações de nim a 1% mostraram-se tóxicos para *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval), (Mansour *et al.* 1986; Mansour *et al.* 1997). A azadirachtina pura, também apresentou efeito acaricida contra *T. urticae* (Sudaram & Sloane 1995).

Diversas outras espécies vegetais já se mostraram tóxicas ao *T. urticae* sob forma de extratos (Barakat *et al.* 1986a, 1986b), de frações lipídicas (El-Gengaihi *et al.* 1999, El-Gengaihi *et al.* 2000) e de compostos isolados, como o Colupulone, um dos componentes da planta *Humulus lupulus* L. (Jones *et al.* 1996) e o alcalóide Piperoctadecalidine, extraídos de *Piper longum* L. (Park *et al.* 2002).

Os extratos etanólicos de *C. jacobinensis*, apesar de não exercerem atividade acaricida nem reduzirem a fecundidade, foram repelentes. Esse resultado sugere a existência de substâncias bioativas que são ativas sobre o comportamento do ácaro mas não necessariamente letais. Contudo, extratos vegetais com atividade acaricida também apresentam outras atividades, seja afetando aspectos da biologia do ácaro, como a fecundidade, ou agindo sobre seu comportamento, como repelentes. Mansour *et al.* (1986) observaram redução de 76% na fecundidade de *T. cinnabarinus*, quando submetidos a extratos orgânicos de nim. Sudaram & Sloane (1995) também observaram redução na fecundidade de *T. urticae* com extratos de nim, bem como repelência. Formulações comerciais de nim reduziram a oviposição de *T. urticae* (Mansour *et al.* 1997, Dimetry *et al.* 1993, Momen *et al.* 1997). Algumas destas formulações também foram repelentes (Momen *et al.* 1997, Mansour *et al.* 1997). Azadiractina pura reduziu o número de ovos colocados por *T. urticae* (Martinez-Villar *et al.* 2005). Os compostos beta-ácido e colupulone foram repelentes e reduziram a sobrevivência de *T. urticae* (Jones *et al.* 1996).

A redução da oviposição pode ser devido à ação dos extratos sobre a alimentação dos

ácaros (Sudaram & Sloane 1995, Dimetry *et al.* 1993). Incapazes de se alimentar na folha, o número de ovos tenderia a diminuir, como resposta ao estresse provocado pelo extrato.

O uso de etanol como solvente orgânico para a preparação dos extratos de *Croton* não interferiram nos resultados do experimento, como pode-se observar na Tabela 1. Chagas *et al.* (2003) mostraram que o etanol, usado como solvente na obtenção dos extratos brutos e como diluente, na preparação dos experimentos, não exerceu atividade tóxica contra o carrapato-do-boi *Boophilus microplus*, e salienta sua utilização para a obtenção de diversos extratos vegetais inseticidas e acaricidas.

Estes resultados evidenciam que as espécies de *Croton* estudadas apresentam potencial para serem utilizadas no controle do ácaro-rajado, quanto aos seus extratos etanólicos. A descoberta de propriedades acaricidas em espécies vegetais nativas pode auxiliar na produção de agrotóxicos naturais de fácil aquisição por pequenos produtores.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES pela concessão de bolsa de mestrado a Wendel J.T. Pontes; ao CNPq pelo suporte financeiro e ao Msc. Rodrigo Leandro B. C. Coitinho pelas sugestões nas análises estatísticas.

Literatura Citada

Alexander, I.C., O.K. Pascoe, P. Marchand & L.A.D. Williams. 1991. An insecticidal diterpene from *Croton linearis*. *Phytochemistry* 30: 1801-1803.

- Barakat, A.A., G.M. Shereef, S.A. Abdallah & S.A. Amer. 1986a.** Joint action of some pesticides and plant extracts against *Tetranychus urticae* Koch. Bull. Entomol. Soc. 14: 243-249.
- Barakat, A. A., G. M. Shereef, S. A. Abdallah & S. A. Amer. 1986b.** Effect of some pesticides and plant extracts on some biological aspects of *Tetranychus urticae* Koch. Bull. Entomol. Soc. 14: 225-232.
- Bernays, E.A. & R.F. Chapman. 1994.** Chemical in plants, p. 14-60. In E.A. Bernays & R.F. Chapman (eds.), Host-Plant selection by phytophagous insects. New York, Chapman & Hall, 360p.
- Castiglioni, E., J.D. Vendramin & M.A. Tamai. 2002.** Evaluación del efecto tóxico de extractos acuosos y derivados de meliáceas sobre *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae). Agrociência 6: 75-82.
- Chagas, A.C.S., R.C. Leite, J. Furlong, H.T. Prates & W.M. Passos. 2003.** Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. Cienc. Rural. 33: 109-114.
- De Almeida, A.B.A., P.S. Melo, C.A. Hiruma-Lima, J.S. Gracioso, L. Carli, D.S. Nunes, M. Haun & A.R.M. Souza-Brito. 2003.** Antiulcerogenic effect and cytotoxic activity of semi-synthetic crotonin obtained from *Croton cajucada* Benth. Eur. J. Pharmacol. 472: 205-212.
- Dimetry, N.Z., S.A.A. Amer & A.S. Reda. 1993.** Biological activity of two neem seed kernel extracts against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. J. Appl. Ent. 116: 308-312.
- El-Gengaihi, S.E., N.A. Ibrahim & S.A.A. Amer. 1999.** Chemical investigation of the lipoidal matter of *Glossostemon bruguieri* and the acaricidal activity of its unsaponifiable fraction. Acarologia 11: 199-204.
- El-Gengaihi, S., N.Z. Dimetry, S.A.A. Amer & S.M. Mohamed. 2000.** Acaricidal activity of lipoidal matter of different plant extracts against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. Insect Sci. Applic. 20: 191-194.
- Flechtmann, C.H.W. 1985.** Ácaros de importância agrícola. São Paulo, Nobel. 189p.
- Gadir, W.S.A., T.O. Onsa, W.E.M. Ali, S.M.A. El Badwin & S.E.I. Adam. 2003.** Comparative toxicity of *Croton macrostachys*, *Jatropha curcas* and *Piper abyssinica* seeds in Nubian goats. Small Rumin. Res. 48: 61-67.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira-Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti-Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia Agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Guerrero, M.F., P. Puebla, R. Carrón, M.L. Martín & L. San Román. 2004.** Vasorelaxant effect of new *neo*-clerodane diterpenoids isolated from *Croton schiedeanus*. J. Ethnopharmacol. 94: 185-189.

- Jones, G., A.M. Campbell, B.J. Bye, S.P. Maniar & A. Mudd. 1996.** Repellent and Oviposition-Deterrent Effects of Hop Beta-Acids on the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae*. Pestic. Sci. 47: 165-169.
- Kogan, M. & R.D. Goeden. 1970.** The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 63: 1175-1180.
- Kubo, I., Y. Asaka & K. Shibata. 1991.** Insect growth inhibitory nor-diterpenes, cis-dehydrocrotonin and trans-dehydrocrotonin, from *Croton cajucara*. Phytochemistry 30: 2545-2546.
- Lopes e Lopes, M.I., J. Saffi, S. Echeverrigaray, J.A.P. Henrique & M. Salvador. 2004.** Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. J. Ethnopharmacol. 95: 437-445.
- Maciel, M.A.M., A.C. Pinto, A.C. Arruda, S.G.S.R. Pamplona, F.A. Vanderlinde, A.J. Lapa, A. Echevarria, N.F. Grynberg, I.M.S. Côlus, R.A.F. Farias, A.M.L. Costa & V.S.N. Rao. 2000.** Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. J. Ethnopharmacol. 70: 41-55.
- Mansour, F., U. Ravid, & E. Putievsky. 1986.** Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species fo Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. Phytoparasitica 14: 137-142.
- Mansour, F.A., K.P.S. Ascher & F. Abo-Moch. 1997.** Effects of Neemgard on Phytophagous and Predacious Mites and on Spiders. Phytoparasitica 25: 333-336.
- Martínez-Villar, E., F.J. Sáenz-de-Cabezón, F. Moreno-Grijalba, V. Marco & I. Pérez-Moreno. 2005.** Effects of azadirachtin on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Exp. Appl. Acarol. 35: 215-222.
- Momen, F.M., A.S. Reda & S.A.A. Amer. 1997.** Effect of neem Azal-F on *Tetranychus urticae* and three predacious mites of the family Phytoseiidae. Acta Phytopathologica Entomol. Hungarica. 32: 355-362.
- Nadir, G.M., R. Felippi, S. Dalbó, J.M. Siqueira-Júnior, D.C. Arruda, F.D. Monache, A.K. Timbola, M.G. Pizzolatti, K. Ckless & R.M. Ribeiro-do-Vale. 2003.** Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Croton celtidifolius* bark. Phytomedicine 10: 176-184.
- Oliveira, J.V., J.D. Vendramin & M.L. Haddad. 1999.** Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. Rev. Agric. 74: 217-227.
- Park, B., S. Lee, W. Choi, C. Jeong, C. Song & K. Cho. 2002.** Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperoctadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. Crop. Prot. 21: 249-251.

- Potenza, M.R., A.P. Takematsu & L.H. Benedicto. 1999a.** Avaliação do controle de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) através de extratos vegetais, em laboratório. Arq. Inst. Biol. 66: 91-97.
- Potenza, M.R., A.P. Takematsu, A.P. Sivieri, M.E. Sato, C.M. Passerotti. 1999b.** Efeito acaricida de alguns extratos vegetais sobre *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) em laboratório. Arq. Inst. Biol. 66: 31-37.
- Roel, A.R. 2001.** Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. Rev. Intern. Desenv. Loc. 1: 43-50.
- Suárez, A.I., R.S. Compagnone, M.M. Salazar-Bookaman, S. Tillett, F.D. Monache, C. Di Giulio & G. Bruges. 2003.** Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton malambo* bar aqueous extract. J. Ethnopharmacol. 88: 11-14.
- Sudaram, K.M.S., R. Campbell, L. Sloane & J. Studens. 1995.** Uptake, translocation, persistence and fate of azadirachtin in aspen plants (*Populus tremuloides* Michx.) and its effect on pestiferous two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). Crop Prot. 14: 415-421.
- Sudaram, K.M.S. & L. Sloane. 1995.** Effects of pure and formulated azadirachtin, a neem-based biopesticid, on the phytophagous spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. J. Environ. Sci. Health. 30: 801-814.

Tabela 1. Média (\pm EP) da mortalidade e fecundidade de *T. urticae* em discos de folhas imersos em extratos etanólicos de caules e folhas de quatro espécies de *Croton*.

Tratamento	Partes da planta	Mortalidade (%)	Fecundidade (número de ovos / disco de folha)
Testemunha (etanol)	-	4,0 \pm 2,2 c	304,6 \pm 8,29 a
Testemunha (água)	-	5,0 \pm 2,2 c	334,7 \pm 10,0 ab
<i>C. jacobinensis</i>	folha	9,0 \pm 2,3 c	338,7 \pm 9,18 a
	caule	13,0 \pm 4,8 c	275,4 \pm 7,84 b
	folha	53,0 \pm 5,4 ab	160,0 \pm 11,6 cd
<i>C. rhamnifolius</i>	caule	60,0 \pm 7,4 ab	118,0 \pm 25,0 d
	folha	69,0 \pm 2,9 a	49,4 \pm 12,2 e
<i>C. sellowii</i>	caule	6,0 \pm 3,3 c	176,8 \pm 4,80 c
	folha	45,0 \pm 6,1 b	169,0 \pm 12,8 cd
<i>C. micans</i>	caule	40,0 \pm 3,6 b	179,3 \pm 7,27 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P = 0.05$).

Tabela 2. Efeito repelente de extratos etanólicos de folhas e caules de quatro espécies do gênero *Croton* sobre o ácaro rajado *T. urticae*.

Tratamento	Parte da planta	Média (\pm DP ²) do Índice de Repelência ¹	Classificação
<i>C. jacobinensis</i>	folha	0,27 \pm 0,10	Repelente
	caule	0,48 \pm 0,24	Repelente
<i>C. rhamnifolius</i>	folha	0,21 \pm 0,09	Repelente
	caule	0,51 \pm 0,18	Repelente
<i>C. sellowii</i>	folha	0,31 \pm 0,11	Repelente
	caule	0,32 \pm 0,09	Repelente
<i>C. micans</i>	folha	0,10 \pm 0,01	Repelente
	caule	0,12 \pm 0,10	Repelente

¹Índice de Repelência calculado de acordo com a fórmula descrita por Kogan & Goeden (1970).

CAPÍTULO 5

ATIVIDADE ACARICIDA DE EXTRATOS HEXÂNICOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE
FOLHAS E FRUTOS DE *Xylopia sericea*, VISANDO O CONTROLE DE *Tetranychus urticae*
(ACARI: TETRANYCHIDAE)

WENDEL J. T. PONTES¹, JOSÉ C. S. DE OLIVEIRA¹, CLÁUDIO A. G. DA CÂMARA¹, CARLA P. DE O.
ASSIS¹, MANOEL G. C. GONDIM JÚNIOR², JOSÉ V. DE OLIVEIRA² E REGINALDO BARROS²

¹Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

²Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

Pontes, W.J.T., J.C.S. Oliveira, C.A.G. Câmara, C.P.O. Assis, M.G.C. Gondim Júnior, J.V. Oliveira & R. Barros. Atividade acaricida de extratos hexânicos e óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopia sericea*, visando o controle de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae).
Nome da Revista.

RESUMO - O presente trabalho avaliou o efeito dos extratos hexânicos de frutos e folhas de *Xylopiya sericae* e de seu componente majoritário, o ácido xylópico, isolado das frutas, sobre o ácaro *Tetranychus urticae*. A ação acaricida e a composição química dos óleos essenciais isolados de folhas e frutos de *X. sericae* também foi investigada. A maior parte dos componentes voláteis identificados foram de monoterpenos e sesquiterpenos. O composto encontrado em maior quantidade no óleo dos frutos foi β -pineno e α -pineno. O óleo das folhas teve como maior componente o cubenole, seguido do α -epi-murolole. O extrato hexânico de frutos e o óleo essencial de frutos e folhas mostraram atividade tóxica sobre o ácaro. O ácido xylópico, mesmo sem provocar mortalidade, reduziu a fecundidade do ácaro.

PALAVRAS-CHAVE: *Xylopiya sericea*, constituintes de óleos essenciais, atividade de extrato vegetal, ácaro-rajado

ACARICIDAL ACTIVITY OF HEXANIC EXTRACTS AND ESSENTIAL OILS OF LEAVES
AND FRUITIS OF *Xylopia sericea* AIMING AT THE CONTROL OF *Tetranychus urticae*
(ACARI: TETRANYCHIDAE)

ABSTRACT - The present work evaluates the effects of hexane extracts of fruits and leaves of *Xylopia sericea* and of the majority component, xylopic acid, isolated from the fruits on the mite *Tetranychus urticae*. The acaricidal action and the chemical composition of the isolated essential oils from the leaves and fruits of *X. sericea* was also investigated. A major part of the volatile components identified are monoterpenes and sesquiterpenes. The major compound found in the fruit oil are β -pinene and α -pinene. The leaves' oil has as major component cubenole, second is α -epi-murolole. The hexane extracts of fruits and the essential oils of the fruits and leaves show toxic action on mites. The xylopic acid even without provoking mortality reduces the mites' fecundity.

KEY WORDS: *Xylopia sericea*, essential oil constituents, plant extract activity, two spotted spider mite

Introdução

A procura por novas espécies vegetais com atividade inseticida tem aumentado nos últimos anos, devido aos problemas ambientais causados pelo uso indiscriminado de inseticidas sintéticos na proteção de culturas em todo o mundo (Roel 2001).

Diversas pesquisas levaram à identificação de várias plantas inseticidas e na caracterização de seus respectivos compostos bioativos (Viegas Júnior 2003). Dentre os compostos naturais comprovadamente bioativos, destacam-se o piretro, a nicotina, a rotenona e a azadiractina, extraídos de *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trev.), *Nicotiana tabacum* L., *Derris* sp. e *Azadirachta indica* A. Juss., respectivamente.

A ação acaricida de extratos vegetais sobre ácaros fitófagos tem sido bastante estudada (Mansour *et al.* 1986, Sudaram *et al.* 1995, Jones *et al.* 1996, Mansour *et al.* 1997, Potenza *et al.* 1999a, 1999b), bem como seus efeitos na redução da fecundidade (Mansour *et al.* 1986, Dimetry *et al.* 1993, Sudaram *et al.* 1995, Mansour *et al.* 1997, Momen *et al.* 1997, Martinez-Villar *et al.* 2005) e alterações comportamentais (repelência) (Sudaram *et al.* 1995, Jones *et al.* 1996, Momen *et al.* 1997, Mansour *et al.* 1997). Nas últimas décadas, óleos essenciais tem sido estudados quanto aos seus efeitos acaricidas, com resultados promissores (Mansour *et al.* 1986, Tunç & Şahinkaya 1998, Chiasson *et al.* 2001, Aslan *et al.* 2004, Kim *et al.* 2004, Çalmaşur *et al.* 2005).

Dentre diversas espécies vegetais utilizadas no controle de pragas agrícolas, incluem-se àquelas pertencentes a família Annonaceae (Hernández 2001). A família Annonaceae compreende cerca de 130 gêneros e 2300 espécie, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais na África, Ásia, Austrália, América Central e do Sul (Moreira *et al.* 2005). No Brasil, esta família está bem representada com ca. de 27 gêneros e 290 espécies., dentre os quais, o gênero *Xylopia*, um dos maiores com mais de 150 espécies amplamente distribuídas em diversas partes

do mundo (Moreira *et al.* 2005). No Brasil, esse gênero é típico do cerrado, embora ocorra em ambientes com estratos arbustivo e arbóreo mais densos.

Muitas espécies do gênero *Xylophia* têm sido estudadas quanto à caracterização de sua composição química, identificando-se alcalóides, compostos voláteis, flavonóides, terpenóides e esteróis (Moreira *et al.* 2005, Nishiyama *et al.* 2004, De-Andrade *et al.* 2004, Stashenko *et al.* 2004).

O gênero *Xylophia* é reconhecido como tendo propriedades medicinais, dentre as quais atividade antimicrobiana (Tatsadjieu *et al.* 2003, Konning *et al.* 2004) e citotóxica (Asekun & Kunle 2004). Como a busca por propriedades inseticidas em plantas medicinais tem crescido nos últimos anos (Alexander *et al.* 1991), a literatura tem reportado vários estudos para verificar o potencial acaricida, inseticida e nematicida (Hernández 2001) de espécies do gênero *Xylophia* no controle de pragas agrícolas. O extrato hexânico de frutos de *X. aethiopica* apresentou forte atividade antialimentar sobre operários de cupins da espécie *Reticulitermes speratus* Kolbe (Lajide *et al.* 1995). Tratamento cromatográfico do extrato hexânico promoveu o isolamento de diterpenos derivados do ácido cauranóico como princípios ativos (Lajide *et al.* 1995). Recentemente, estudos voltados para o óleo essencial desta mesma espécie revelou seu potencial inseticida contra pragas de grãos armazenados (Okonkwo & Okoje 1996, Ngamo *et al.* 2001).

Xylophia sericea St. Hill. é uma espécie arbórea, que cresce naturalmente no Nordeste brasileiro, onde é conhecida popularmente como “Embiriba”. As cascas da madeira são utilizadas na indústria caseira de cordoaria. A infusão de seus frutos é usada popularmente no tratamento de perturbações gástricas, sendo suas sementes carminativas e usadas como condimento, substituindo a pimenta do reino (Corrêa 1987). Investigação prévia dos constituintes químicos desta planta resultou no isolamento de mono e diterpenos a partir das sementes

(Takahashi *et al.* 2001). Levantamento na literatura revelou quatro citações referentes à composição do óleo essencial de *X. sericea*. Duas delas tiveram sua composição determinada, apenas, a partir dos frutos (Craveiro *et al.* 1986, Lemos *et al.* 1992), uma da casca da raiz (Fournier *et al.* 1994) e outra de toda parte da planta (folha, fruto, raiz e caule) (Câmara *et al.* 1996). Fournier *et al.* (1994) e Lemos *et al.* (1992) também investigaram o potencial antimicrobiano do óleo essencial da casca da raiz e do fruto de *X. sericea*, respectivamente.

Apesar da prévia investigação fitoquímica dos frutos, bem como os relatos da ação antimicrobiana e da composição química do óleo essencial de *X. sericea* de diferentes regiões do Nordeste brasileiro, nenhum relato tem sido feito sobre a composição química e atividade acaricida do óleo essencial do fruto e folha de *X. sericea*, que ocorre na floresta de restinga do Estado de Pernambuco. O estudo de propriedades acaricidas de *X. sericea* é particularmente importante para o controle de ácaros fitófagos, como *T. urticae*, que infesta culturas de importância econômica em todo o mundo, como o algodoeiro, feijoeiro, morangueiro, mamoeiro, tomateiro e videira (Gallo *et al.* 2002). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de extratos hexânicos de folhas e frutos e do componente majoritário, ácido xylópico, obtido de frutos, sobre o ácaro-rajado *T. urticae*; determinar a composição química do óleo essencial de folhas e frutos de *X. sericea* e testar a ação acaricida.

Material e Métodos

Material Botânico. Frutos e folhas de *X. sericea* foram coletados na área de restinga da praia de Itapuama no litoral sul de Pernambuco, Brasil, em setembro de 2005. Uma exsicata do material

botânico foi depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), sob o número 35409.

Criação do Ácaro. O ácaro rajado *T. urticae* utilizado para os bioensaios foi obtido da criação mantida em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.) do Laboratório de Acarologia Agrícola do Departamento de Agronomia da UFRPE a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, U.R. $65 \pm 3\%$ e fotofase de 12h.

Obtenção dos Extratos e Isolamento do Ácido Xylópico. Os extratos foram preparados à temperatura ambiente no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos da UFRPE. Frutos e folhas foram secos à temperatura ambiente, triturados, pesados e macerados, separadamente com hexano por 24 h. O procedimento foi repetido três vezes para assegurar uma melhor extração dos constituintes solúveis. O sistema foi filtrado e o solvente evaporado à pressão reduzida com auxílio de um rota-evaporador para obtenção do extrato bruto. Após serem lavados em água corrente, os frutos imaturos de *X. sericea* foram secos à temperatura ambiente e triturados em liquidificador, obendo-se um material compacto (300 g), o qual foi macerado exaustivamente com hexano. O extrato hexânico obtido foi evaporado à pressão reduzida em um rota-evaporador. Esse procedimento forneceu um extrato bruto oleoso de coloração esverdeada (23,4 g). O extrato obtido foi tratado cromatograficamente, utilizando-se sílica gel 60 como fase estacionária e a fase móvel constituída de uma mistura binária de solvente hexano e acetato de etila. A separação cromatográfica forneceu 15 frações. A nona fração revelou um precipitado, o qual foi lavado várias vezes, filtrado à vácuo, fornecendo o ácido xylópico (1,8g).

Isolamento dos Óleos e Análise Química por CG e CG/EM. Folhas e frutos, separadamente, foram submetidos à hidrodestilação por 2 h, utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado para obtenção dos óleos. Estes foram separados da água, secos com Na_2SO_4 e armazenados em

frascos selados, sob baixa temperatura antes da análise e de serem usados nos experimentos. Os rendimentos dos óleos foram calculados a partir do peso do material fresco. Todo o procedimento foi repetido três vezes. Os óleos obtidos foram analisados na Central Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) por cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas. Utilizou-se um cromatógrafo HP 5890B SERIES II, acoplado a um espectrômetro de massas HP-5971, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida J & W Scientific DB5 (30 m x 0,25 μm). A análise cromatográfica (CG), realizada no Laboratório de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), foi obtida utilizando um aparelho Hewlett Packard 5890 SERIES II equipado com um detector de ionização de chama (FID) e com uma coluna capilar de sílica fundida J & W Scientific DB-5 (30m x 0.25mm x 0.25 μm). As temperaturas do injetor e detector foram, respectivamente, 290°C e 285°C. Usou-se o hélio como gás de arraste, a uma vazão de 1 mL/min; o programa de temperatura da coluna foi 40°C (1 minuto) até 220°C a 4°C/min; 220°C (0 minuto) até 280°C a 20°C/min. Os espectros de massas foram obtidos com um impacto eletrônico de 70eV, 0,84 scan/sec de m/z 40 a 550. O Hidrogênio foi usado como gás de arraste, com velocidade de fluxo 1,5 mL min⁻¹, modo split (1:10). Uma solução de 1,5 μL com 10mg de óleo em acetato de etila foi injetada. Os índices de retenção foram obtidos pela co-injeção do óleo com uma mistura de hidrocarbonetos lineares C₁₁-C₂₄. Os compostos foram identificados com base na comparação dos índices de retenção (Van Den Dool & Kratz 1963) com os disponíveis na literatura, seguida pela confirmação visual de padrões dos massas reportados na literatura (Adams 1995), bem como pela comparação direta das sugestões de massas disponíveis na biblioteca do computador (Wiley, com 250.000 compostos).

Bioatividade dos Extratos Hexânicos e Ácido Xylópico. Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE, à temperatura de $25 \pm 5^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 8\%$ e fotofase de 12h. A atividade dos extratos e do ácido xylópico foram testadas sobre *T. urticae*, através da pulverização sobre discos de folhas, segundo Konno *et al.* (2004). Utilizaram-se quatro soluções do extrato hexânico de folhas e frutos nas concentrações 0,25, 0,5, 0,75 e 1% e três soluções etanólicas do ácido xylópico nas concentrações 0,25, 0,5 e 0,75%. Discos de folha de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.) de 2,5 cm de diâmetro foram pulverizados, individualmente, na superfície adaxial, em torre de Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth, Inglaterra), previamente calibrada a uma pressão de 68,95 kPa (10 psi). Um volume de 2 mL de solução foi utilizada na pulverização. Uma vez secos, os discos foram postos para flutuar em água no interior de placas de Petri, atravessados por um alfinete fixo ao fundo da placa, segundo metodologia descrita por Reis *et al.* (1998). Para cada arena foram transferidos 10 fêmeas adultas de *T. urticae*, com o auxílio de um pincel de cerdas finas e microscópio estereoscópico. A mortalidade foi avaliada 72 h após a transferência dos ácaros, sendo considerados mortos aqueles que não se movimentavam a uma distância superior ao comprimento de seu próprio corpo, depois de um leve toque com um pincel de cerdas finas. O número total de ovos foi quantificado ao final do experimento, para avaliar o efeito na fecundidade dos ácaros. O experimento foi desenvolvido no delineamento inteiramente casualizado, constituído de 10 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$) com auxílio do software SANEST.03. Na avaliação do efeito repelente, utilizou-se o método descrito por Kogan & Goeden (1970) com algumas modificações. Discos de folha de feijão-de-porco (4,5cm) foram divididos em duas metades: uma delas foi coberta com papel de filtro e a outra pulverizada com o extrato, em torre

de Potter. A testemunha (porção coberta) foi pulverizada com etanol. Entre as metades de cada disco foi delimitado um espaço neutro de 0,3cm que não foi pulverizado, foram colocadas 10 fêmeas adultas de *T. urticae*. A avaliação foi feita após 24 horas, contando-se o número de ácaros presentes em cada metade do disco da folha. Os ácaros encontrados na área neutra durante a avaliação foram considerados repelidos ou atraídos conforme sua proximidade com a testemunha ou com a parte tratada. O Índice de Repelência (IR) dos extratos foi calculado de acordo com a fórmula: $IR = 2G/(G + P)$ proposta por Kogan & Goeden (1970), onde G = número de ácaros no tratamento e P = número de ácaros na testemunha. O intervalo de segurança utilizado para classificar os extratos foi obtido a partir da média dos IR calculados e seu respectivo desvio padrão (DP). Se a média dos IR foi menor que $1 - DP$, o extrato foi classificado como repelente. Se a média foi maior que $1 + DP$, o extrato foi atraente, e se a média esteve entre $1 - DP$ e $1 + DP$, o extrato foi neutro.

Teste de Fumigação dos Óleos Essenciais. A metodologia para avaliar a ação fumigante dos óleos essenciais sobre os ácaros foi adaptada de Aslan *et al.* (2004). Recipientes de vidro com capacidade de 2,5 L foram usadas como câmaras de fumigação. Três discos de folha de feijão-de-porco (2,5cm) foram colocadas sobre discos de papel de filtro saturados com água, dentro de placas de Petri de vidro (9cm). Em cada disco de folha foram colocadas 10 fêmeas adultas do ácaro-rajado. Cada placa de Petri, contendo no total 30 ácaros, foi colocada no interior de um recipiente de vidro fechado. Os óleos essenciais foram aplicados, com auxílio de pipeta automática, em tiras de papéis de filtro (5x2cm) presas à superfície inferior da tampa dos recipientes. As doses aplicadas foram de 5, 10, 15, 20 e 25µl de cada óleo essencial, o que corresponde a uma concentração de 2, 4, 6, 8 e 10µL / L de ar, respectivamente. Nada foi aplicado na testemunha. O período de exposição aos óleos foi de 24, 48 e 72 horas. Para cada

dose e tempo de exposição, três repetições foram utilizadas, sendo cada repetição um recipiente de vidro contendo uma placa de Petri com 30 ácaros. As avaliações foram feitas ao final do período de exposição. Consideraram-se mortos os ácaros incapazes de caminhar uma distância superior ao comprimento de seu corpo após um leve toque com pincel de cerdas finas. A fecundidade foi avaliada pela contagem do número de ovos. O delineamento deste experimento foi inteiramente casualizado, e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com médias comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$), calculado pelo Software SANEST 3.0.

Resultados e Discussão

Os óleos essenciais obtidos, a partir de frutos e folhas de *X. sericea* por meio da hidrodestilação apresentaram uma coloração amarelada e um rendimento de 0,22% e 0,43%, respectivamente.

Os 24 compostos identificados estão listados na Tabela 1. Com exceção do derivado de ácido graxo, isometil acetato, identificado no óleo de folhas, todos os componentes voláteis identificados foram monoterpenos e sesquiterpenos, com predominância do último no óleo dos frutos (81,71%) e monoterpenos nas folhas (98,89%). Os compostos majoritários encontrados no óleo de frutos foram β -pineno (45,59%) e α -pineno (17,18%). O óleo de folhas foi majoritariamente constituído por cubenol (57,43%), seguido por α -epi-murolol (26,09%).

Os resultados obtidos para o óleo essencial de *X. sericea* que ocorre em Pernambuco foram provenientes de uma simples amostra de um sítio de coleta, sem levar em consideração as possíveis interações intraespecíficas. Entretanto, o óleo de folhas e frutos analisado nesse trabalho apresentou um perfil químico diferente, quando comparado com aqueles reportados na

literatura (Craveiro *et al.* 1986, Lemos *et al.* 1992, Fournier *et al.* 1994, Câmara *et al.* 1996). Essa diferença pode ser explicada pela distribuição geográfica das populações estudadas, que crescem sob influência de distintas condições de solo e clima. Por essa razão, os resultados obtidos na análise do óleo essencial desta planta sugerem que a mesma seja um novo quimiotipo que ocorre na floresta de restinga de Pernambuco.

Somente os extratos hexânicos de frutos foram tóxicos, sendo a maior mortalidade de 57% obtida na concentração de 1%. Nas concentrações de 0,75 e 0,5%, a mortalidade, embora significativa, foi de 28% e 24%, respectivamente.

A fecundidade dos ácaros foi afetada pelo extrato hexânico de frutos (Tabela 1). Na concentração, de 1%, ocorreu redução na fecundidade foi de 75,4%, correspondendo à média de 84,1 ovos por disco de folha. As concentrações de 0,75 e 0,5% reduziram a fecundidade em 26,8 e 30,4%, respectivamente. O extrato de folhas não afetou a fecundidade em nenhuma das concentrações testadas. O ácido xilópico, contudo, ocasionou uma redução significativa no número de ovos na concentração de 0,75%.

Os extratos de frutos e de folhas foram considerados repelentes, a partir da concentração de 0,5% (Tabela 3). O ácido xilópico não produziu nenhuma alteração no comportamento dos ácaros, sendo classificado como neutro.

Os óleos essenciais provocaram maior mortalidade de *T. urticae* quanto maior foi a concentração testada (Tabela 4). A maior toxicidade foi obtida para o óleo de folhas na maior concentração, provocando mortalidade de 64,4 49,9% e 58,8%, em 24 48 e 72h, respectivamente, não havendo diferença estatística na mortalidade ao nível de 5% de probabilidade.

O óleo essencial de folhas e frutos, também, interferiu na fecundidade de *T. urticae* (Tabela 5). As menores médias de ovos de 21,0 e 12,3, respectivamente, foram observadas em 24h, para os óleos de frutos e folhas. Houve aumento do número de ovos ao longo do tempo.

O ácido xylópico é o principal componente do extrato hexânico dos frutos (7,8%), portanto, é possível que esta substância seja ativa na redução da oviposição. Esperava-se que o mesmo afetasse a sobrevivência e reduzisse a fecundidade dos ácaros numa concentração inferior a 1%. Entretanto, o ácido xylópico não provocou mortalidade e só foi ativo na redução da fecundidade na maior concentração testada (0,75%). Esses resultados sugerem que uma ou mais substâncias presentes no extrato hexânico dos frutos sejam os responsáveis, em conjunto com o ácido xylópico, pela bioatividade observada. Estudos fitoquímicos mais detalhados devem ser conduzidos com o intuito de se isolar outros compostos presentes no extrato hexânico dos frutos de *X. sericea* para avaliar o seu potencial acaricida.

Os monoterpenos são metabólitos especiais provenientes do metabolismo secundário vegetal que podem causar interferência tóxica nas funções bioquímicas e fisiológicas de insetos herbívoros (Dunkel & Sears 1998). A análise dos constituintes do óleo essencial de folhas e frutos de *X. aromatica* revelou a presença de componentes reconhecidamente inseticidas, como o α -pineno,, α -terpineno, limoneno²¹. Em outra investigação, Sutherst *et al.* (1982) atribuíram à mistura dos monoterpenos α - e β -pineno como sendo os componentes ativos do líquido exsudado de uma espécie do gênero *Stylosanthes* contra as larvas do carrapato-do-boi *Boophilus microplus* (Canestrini). Apesar dos monoterpenos α - e β -pineno, juntos somarem mais de 62% do óleo de frutos de *X. sericea*, foi o óleo das folhas que se revelou mais ativo contra *T. urticae*, cujos componentes principais identificados foram os sesquiterpenos oxigenados cubenol (57,43%) e α -epi-muurolol (26,09%). Esse resultado pode ser explicado devido aos diferentes modos de ação

que esses metabólitos especiais podem apresentar para diferentes espécies, sem excluir o possível efeito sinérgico de outros constituintes do óleo, em pequenas quantidades, que podem ter mascarado a reconhecida atividade acaricida de ambos os monoterpenos descritos por Sutherst *et al.* (1982).

Agradecimentos

À CAPES pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor e ao CNPq pelo suporte financeiro.

Literatura Citada

- Adams, R.P. 1995.** Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Illinois, Allured Publishing Corporation. 468p.
- Alexander, I.C., O.K. Pascoe, P. Marchand & L.A.D. Williams. 1991.** An insecticidal diterpene from *Croton linearis*. *Phytochemistry* 30: 1801-1803.
- Asekun, O.T. & O. Kunle. 2004.** The chemical constituents of the fruti essential oil of *Xylopi aethiopica* (Dunal) A. Rich from Nigeria. *J. Essent. Oil-Bearing Plant.* 7: 186-189.
- Aslan, İ., H. Özbek, Ö. 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.
- Camara, A.G.C., J.W. Alencar & E.R. Silveira. 1996.** Volatile Constituents of *Xylopi aethiopica* St. Hill. *J. Essent. Oil Res.* 8: 75-78.
- Chiasson, H., A. Bélanger, N. Bostanian, C. Vincent & A. Poliquin. 2001.** Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *J. Econ. Entomol.* 94: 167-171.
- Corrêa, M.P. 1987.** Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, p.82.

- Craveiro, A.A., J.W. Alencar & O. Nostrowsy. 1986.** Essential Oil of *Xylopi sericea*. A Comparative Analysis. J. Nat. Prod. 49: 1146-1148.
- Çalmaşur, Ö., İ. Aslan & F. Şahin. 2005.** Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Ind. Crop Prod. 23: 140-146.
- De-Andrade, N.C., J.M. Barbosa-Filho, M.S. Da-Silva, E.V.L. Da-Cunha & J.G.S. Maia. 2004.** Diterpenes and volatile constituents from the leaves of *Xylopi cayennensis* Maas. Biochem. Syst. Ecol. 32: 1055-1058.
- Dimetry, N.Z., S.A.A. Amer & A.S. Reda. 1993.** Biological activity of two neem seed kernel extracts against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. J. Appl. Ent. 116: 308-312.
- Dunkel, F.V. & L.J. Sears. 1998.** Fumigant properties of physical preparations from mountain big sagebrush, *Artemisia tridentata* Nutt. ssp. *vaseyana* (Rydb.) beetle for stored grain insects. J. Stor. Prod. Res. 34: 307-321.
- Fournier G., A. Hadjiakhoondi, M. Leboeuf, A. Cave, B. Charles & J. Fourniat. 1994.** Volatile constituents of *Xylopi frutescens*, *X. pynaertii* and *X. sericea*: Chemical and biological study. Phytotherapy Res. 8: 166-169.
- Gallo, D.; O. Nakano, S. Silveira-Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti-Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia Agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Hernández, C.R. 2001.** Plantas contra plagas – potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. Estado do México, RAPAM, 133p.
- Jones, G., A.M. Campbell, B.J. Bye, S.P. Maniar & A. Mudd. 1996.** Repellent and Oviposition-Deterrent Effects of Hop Beta-Acids on the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae*. Pestic. Sci. 47: 165-169.
- Kim, S. I.; J.H. Yi, J.H. Tak & Y.J. Ahn. 2004.** Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Vet. Parasitol. 120: 297-304.
- Kogan, M. & R.D. Goeden. 1970.** The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 63: 1175-1180.
- Konning, G.H., C. Agyane & B. Ennison. 2004.** Antimicrobial activity of some medicinal plants from Ghana. Fitoterapia 75: 65-67.
- Konno, R.H., C.R. Franco & C. Omoto. 2004.** Suscetibilidade de populações de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) a acaricidas organoestânicos em citros. Sci. Agric. 58: 703-709.

- Lajide, L., P. Escoubas & J. Mizutani. 1995.** Termite antifeedant activity in *Xylopiia aethiopia*. *Phytochemistry* 40: 1105-1112.
- Lemos, T.L.G., F.J.Q. Monte, F.J.A. Matos, J.W. Alencar, A.A. Craveiro, R.C.B.S. Barbosa & E.O. Lima. 1992.** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Brazilian Plants. *Fitoterapia* 63: 266–268.
- Mansour, F., U. Ravid, & E. Putievsky. 1986.** Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species fo Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Phytoparasitica* 14: 137-142.
- Mansour, F.A., K.P.S. Ascher & F. Abo-Moch. 1997.** Effects of Neemgard on Phytophagous and Predacious Mites and on Spiders. *Phytoparasitica* 25: 333-336.
- Martínez-Villar, E., F.J. Sáenz-de-Cabezón, F. Moreno-Grijalba, V. Marco & I. Pérez-Moreno. 2005.** Effects of azadirachtin on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 35: 215-222.
- Momen, F.M., A.S. Reda & S.A.A. Amer. 1997.** Effect of neem Azal-F on *Tetranychus urticae* and three predacious mites of the family Phytoseiidae. *Acta Phytopathologica Entomol. Hungarica.* 32: 355-362.
- Moreira, I.C., J. H. G. Lago & N. F. Roque. 2005.** Sesquiterpenes, diterpenes, steroids and alkaloid from branches of *Xylopiia brasiliensis* Spreng (Annonaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 948-951.
- Ngamo, L.S.T., M.B. Ngassoum, L. Jirovetz, A. Ousman, E.C. Nukenine & O.E. Mukala. 2001.** Protection of stored maize against *Sitophilus zeamais* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Mededelingen - Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen* 66: 473-478
- Nishiyama, Y., M. Moriyasu, M. Ichimaru, K. Iwasa, A. Kato, S.G. Mathenge, P.B.C. Mutiso, & F.D. Juma. 2004.** Quaternary isoquinoline alkaloids from *Xylopiia parviflora*. *Phytochemistry* 65: 939-944.
- Okonkwo, E.U. & W.I. Okoye. 1996.** The efficacy of four seed powders and the essential oils as protectants of cowpea and maize grains against infestation by *Callorobruchus maculatus* (Fabricius), (Coleoptera, Bruchidae) and *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera, Curculionidae) in Nigeria. *Int. J. Pest Manag.* 42: 143-146.
- Potenza, M.R., A.P. Takematsu & L.H. Benedicto. 1999a.** Avaliação do controle de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) através de extratos vegetais, em laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 66: 91-97.
- Potenza, M.R., A.P. Takematsu, A.P. Sivieri, M.E. Sato, C.M. Passerotti. 1999b.** Efeito acaricida de alguns extratos vegetais sobre *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) em laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 66: 31-37.

- Reis, P.R., L.G. Chiavegato & E.B. Alves. 1998.** Biologia de *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). An. Soc. Entomol. Brasil 27: 185-191.
- Roel, A.R. 2001.** Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. Rev. Intern. Desenv. Loc. 1: 43-50.
- Stashenko, E.E., B.E. Jaramillo & J.R. Martínéz. 2004.** Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopiia aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. J. Chromatogr. A 1025: 105-113.
- Sudaram, K.M.S., R. Campbell, L. Sloane & J. Studens. 1995.** Uptake, translocation, persistence and fate of azadirachtin in aspen plants (*Populus tremuloides* Michx.) and its effect on pestiferous two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). Crop Prot. 14: 415-421.
- Sutherst, R.W., R.J. Jones & H.J. Schnitzerling. 1982.** Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. Nature 295: 320-321.
- Takahashi, J.A., S.V. Henrieta & M.A.D. Boaventura. 2001.** Mono and diterpenes from seeds of *Xylopiia sericea*. Quim. Nova.24: 616-618.
- Tatsadjieu, L.N., J.J. Essia-Ngang, M.B. Ngassoum & F-X. Etoa. 2003.** Antibacterial and antifungal activity of *Xylopiia aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum leprieurii* from Cameroon. Fitoterapia 74: 469-472.
- Tunç, I. & Şahinkaya. 1998.** Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. Entomol. Exp. Appl. 86: 183-187.
- Van den Dool, H., & P.H. Kratz. 1963.** A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. J. Chromatogr. A 11: 463-471.
- Viegas Júnior, C. 2003.** Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. Quim. Nova. 26: 390-400.

Tabela 1. Percentual dos Constituintes voláteis de Folhas e Frutos de *Xylopia sericea*

Composto	I.R.Cal.	I.R.Lit.	(%)	
			Folhas	Frutos
α - Pineno	941	939	0,41	17,18
Camfeno	956	953	0,25	-
β - Pineno	987	980	-	45,59
Myrceno	1002	991	-	9,13
<i>o</i> - Cymeno	1029	1022	-	1,25
<i>p</i> - Cymeno	1031	1026	0,19	-
Sylvestreno	1038	1027	-	2,63
<i>trans</i> - Pinocarveol	1148	1139	-	2,26
Não identificado	1165	-	-	3,21
α - Terpeneol	1195	1189	-	1,05
Myrtenal	1204	1193	-	1,22
Myrtenol	1206	1194	-	1,40
Isometil Acetato	1317	1306	0,26	-
α - Cubebeno	1367	1351	-	1,26
α - Copaeno	1385	1376	-	7,47
α - Cendreno	1416	1409	2,00	-
β - Gurjuneno	1431	1432	-	1,25
γ - Elemeno	1434	1433	3,26	-
Seychelleno	1465	1460	1,36	-
Germacreno - D	1485	1480	1,12	-
δ - Cadineno	1525	1524	1,01	-
β - Oplopenona	1608	1606	2,67	-
β - Acorenol	1637	1634	-	2,20
α - Epi - Muurolol	1641	1641	26,09	2,90
Cubenol	1647	1642	57,43	-
Não identificado	1655	-	3,95	-
Total			100	100

Índice de Retenção (IR) calculado pelo tempo de retenção de n-alcenos em

coluna não polar DB-5.

Tabela 2. Média (\pm EP) de mortalidade e fecundidade de *T. urticae* em discos de folhas pulverizados com diferentes concentrações de extratos hexânicos de folhas e frutos de *X. sericea* e com o ácido xylópico, componente principal do extrato de frutos.

Tratamento	Concentração (%)	Mortalidade (%)	Fecundidade (ovos / disco de folha)
Testemunha (etanol)	-	2,0 \pm 0,13 c	332,8 \pm 12,2 ab
Testemunha (água)	-	3,0 \pm 0,15 c	354,8 \pm 10,2 a
Frutos	1,00	57,0 \pm 0,61 a	84,1 \pm 8,06 f
	0,75	28,0 \pm 0,57 b	251,4 \pm 14,3 cde
	0,50	14,0 \pm 0,44 bc	239,3 \pm 16,0 de
	0,25	5,0 \pm 0,26 c	304,7 \pm 11,2 abc
	1,00	3,0 \pm 0,15 c	335,2 \pm 7,75 ab
Folhas	0,75	14,0 \pm 0,30 bc	314,7 \pm 11,4 ab
	0,50	4,0 \pm 0,21 c	337,6 \pm 10,9 ab
	0,25	5,0 \pm 0,26 c	338,1 \pm 13,2 ab
	0,75	5,0 \pm 0,22 c	231,0 \pm 12,7 e
Ácido xylópico	0,50	8,0 \pm 0,24 c	292,0 \pm 6,99 bcd
	0,25	5,0 \pm 0,22 c	332,8 \pm 12,2 ab

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).

Tabela 3. Efeito repelente (Média ± EP) do extrato hexânico de frutos e folhas e do ácido xylópico de *X. sericea* sobre o ácaro rajado *T. urticae*.

Extratos	Concentração (%)	Média do Índice de Repelência ¹	Classificação
Frutos	1,0	0,0 ± 0,0	Repelente
	0,75	0,14 ± 0,0	Repelente
	0,5	0,36 ± 0,30	Repelente
	0,25	0,71 ± 0,30	Neutro
Folhas	1,0	0,34 ± 0,06	Repelente
	0,75	0,08 ± 0,01	Repelente
	0,5	0,30 ± 0,09	Repelente
	0,25	0,56 ± 0,60	Neutro
Ácido xylópico	0,75	0,56 ± 0,64	Neutro
	0,5	0,98 ± 0,29	Neutro
	0,25	1,2 ± 0,80	Neutro

¹ Índice de Repelência calculado de acordo com a fórmula descrita por Kogan & Goeden (1970).

Tabela 4. Média (\pm EP) da mortalidade de *T. urticae* submetido à ação fumigante do óleo essencial de folhas e frutos de *X. sericea* em cinco concentrações e três períodos de exposição ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Concentração ($\mu\text{L} / \text{L}$ de ar)	Mortalidade (%)					
	Frutos			Folhas		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
0	$0,0 \pm 0,0$ bA	$0,0 \pm 0,0$ cA	$3,3 \pm 0,57$ cA	$1,1 \pm 0,32$ cA	$0,0 \pm 0,0$ bA	$0,0 \pm 0,0$ cA
2	$1,1 \pm 0,32$ bA	$4,4 \pm 0,32$ cA	$3,3 \pm 0,57$ cA	$17,7 \pm 0,32$ cAB	$4,4 \pm 0,66$ bB	$25,5 \pm 1,45$ bA
4	$1,1 \pm 0,32$ bB	$11,1 \pm 0,32$ bA	$16,6 \pm 0,57$ bA	$38,8 \pm 0,87$ bA	$42,1 \pm 1,45$ aA	$48,8 \pm 0,32$ aA
6	$14,4 \pm 0,87$ aA	$14,4 \pm 0,32$ abA	$17,7 \pm 0,32$ bA	$41,0 \pm 0,87$ bB	$42,1 \pm 1,20$ aAB	$54,3 \pm 0,32$ aA
8	$17,7 \pm 0,32$ aA	$16,6 \pm 0,57$ abA	$19,9 \pm 0,57$ abA	$49,9 \pm 2,08$ abA	$42,2 \pm 1,76$ aA	$53,2 \pm 1,52$ aA
10	$25,5 \pm 1,15$ aA	$19,9 \pm 0,57$ aA	$19,9 \pm 1,15$ aA	$64,4 \pm 0,87$ aA	$49,9 \pm 1,52$ aA	$58,8 \pm 1,45$ aA

Médias seguidas de letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada óleo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P = 0.05$).

Tabela 5. Média (\pm EP) da fecundidade (número de ovos / repetição) de *T. urticae* submetido à ação fumigante do óleo essencial de folhas e frutos de *X. sericea* em seis concentrações e três períodos de exposição ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Concentração ($\mu\text{L} / \text{L}$ de ar)	Fecundidade (número de ovos / repetição)					
	Frutos			Folhas		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
0	217,6 \pm 2,96 aA	277,6 \pm 8,88 aB	313,3 \pm 8,42 aC	302,0 \pm 9,65 aA	332,3 \pm 9,35 aB	324,6 \pm 27,86 aB
2	192,6 \pm 6,17 bB	121,0 \pm 2,0 bC	301,6 \pm 8,84 aA	19,6 \pm 0,87 bC	288,6 \pm 11,98 aA	239,0 \pm 6,24 bB
4	118,0 \pm 4,16 cB	114,3 \pm 1,66 bcB	220,0 \pm 1,52 bA	14,0 \pm 1,0 bB	171,0 \pm 11,54 bA	180,6 \pm 3,38 bcA
6	67,6 \pm 5,24 dC	100,6 \pm 1,76 cdB	203,3 \pm 3,38 bcA	11,0 \pm 0,57 bB	181,0 \pm 11,60 bA	181,3 \pm 7,69 bcA
8	35,3 \pm 2,40 eC	87,3 \pm 1,45 deB	179,6 \pm 1,45 cA	13,6 \pm 1,20 bC	173,0 \pm 2,30 bB	195,6 \pm 4,48 bcA
10	21,0 \pm 1,73 eC	70,0 \pm 3,46 eB	125,0 \pm 5,57 dA	12,3 \pm 1,20 bB	177,3 \pm 2,72 bA	157,6 \pm 12,15 cA

Médias seguidas de letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada óleo, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P = 0.05$).