

ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI
(ANACARDIACEAE) EM *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)
E *Rhyzopherta dominica* FABRICIUS (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE)

por

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

(Sob Orientação do Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara - UFRPE)

RESUMO

A busca por novos compostos biologicamente ativos aos artrópodes tem um papel importante no manejo integrado de pragas. *Schinus terebinthifolius*, conhecida popularmente como aroeira é uma espécie de grande abundância o estado de Pernambuco e, devido as suas propriedades químicas e biológicas, é amplamente utilizada na medicina popular. Este trabalho tem por objetivo determinar os constituintes químicos de óleos essenciais dos frutos maduros (OEFM) e imaturos (OEFI) de aroeira e indicar o potencial acaricida e inseticida, a partir dos efeitos letais e subletais, sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Rhyzopherta dominica* Fabr. (Coleoptera: Bostrichidae). A análise realizada por GC/EM revelou o limoneno como constituinte majoritário em ambos os óleos (OEFI = $44,1 \pm 1,3\%$; OEFM = $31,8 \pm 1,2\%$). A ação fumigante e contato residual desses óleos sobre *T. urticae* revelou que o OEFI foi mais ativo por fumigação ($LC_{50} = 1,46 \mu\text{L/L}$ de ar), enquanto que o OEFM foi mais ativo nos testes de contato com placas fechadas do que placas abertas ($LC_{50} = 3,04 \mu\text{L/L/cm}^2$) e não diferiram estatisticamente do eugenol. Estes óleos exibiram significativa atividade repelente a *T. urticae* comparados com o eugenol. Para *R. dominica* no teste de fumigação não houve diferença estatística entre os óleos, mas ambos se mostraram mais eficazes no período de exposição de 72h.

O limoneno, principal constituinte dos OEFI e OEFM, apresentou o mesmo nível de toxicidade quando comparado aos óleos essenciais. Testes com blendas preparadas com os constituintes principais e minoritários desses óleos indicaram que o limoneno foi o composto que mais contribuiu para a toxicidade obtida para o OEFI e o OEFM. O OEFI foi repelente a 25, 35 e 45 $\mu\text{L}/2\text{g}$ e o OEFM se mostrou atraente na menor concentração (15 $\mu\text{L}/2\text{g}$) e repelente nas mais altas (30 e 50 $\mu\text{L}/2\text{g}$).

PALAVRAS-CHAVE: Ácaro-rajado, besourinho-dos-cereais, inseticidas botânicos, aroeira.

ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF FRUIT *Schinus terebinthifolius* RADDI
(ANACARDIACEAE) IN *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) AND
Rhyzopherta dominica FABRICIUS (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE).

by

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

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

ABSTRACT

The search for new biologically active compounds to arthropods seems to have an important role in integrated pest management. *Schinus terebinthifolius*, popularly known as pepper tree is a kind of abundance in Pernambuco and due to their biological properties is widely used in folk medicine. This study aimed to determine the chemical constituents of essential oils of ripe fruits (OORF) and unripe (OOUF) mastic and evaluate the potential acaricide and insecticide through lethal and sublethal effects on *Tetranychus urticae* and *Rhyzopherta dominica*. Analyzed by GC / MS revealed the limonene as the main constituent in both oils (OOUF = $44,1 \pm 1,3\%$; OORF = $31,8 \pm 1,2\%$). The residual contact and fumigant action of these oils on *T. urticae* revealed OOUF the most active in fumigation ($LC_{50} = 1,46 \mu\text{L} / \text{L}$ of air), while OEFM was more active in the tests of the contact petri dishes closed and opened petri dishes ($LC_{50} \mu\text{L}/\text{L}/\text{cm}^2 = 3,04$) and did not differ statistically from eugenol. These oils exhibited significant repellent activity against *T. urticae* compared with eugenol. For *R. dominica* fumigation test showed no statistical difference between the two oils, but both were more effective in the exposure period of 72h. Limonene the main constituent of OOUF and OORF, showed the same level of toxicity compared to the essential oils. Tests with blends prepared with the major and minor constituents of these oils

indicated that limonene is the major contributor to toxicity obtained for OOUF and OORF. The OOUF was repellent to 25, 35 and 45 $\mu\text{L}/2\text{g}$) and the oil of OORF proved attractive in the lower concentration tested (15 $\mu\text{L}/2\text{g}$) and repellent at the highest (30 and 50 $\mu\text{L}/2\text{g}$).

KEY WORDS: Two-spotted spider mite, beetle of cereals, botanical insecticides, pepper tree.

ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI
(ANACARDIACEAE) EM *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)
E *Rhyzopherta dominica* FABRICIUS (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE)

por

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

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 – 2012

ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI
(ANACARDIACEAE) EM *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)
E *Rhyzopherta dominica* FABRICIUS (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE)

por

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

Comitê de Orientação:

Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Clécio Souza Ramos – UFRPE

ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI
(ANACARDIACEAE) EM *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)
E *Rhyzopherta dominica* FABRICIUS (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE).

por

ALINE FONSECA DO NASCIMENTO

Presidente:

Reginaldo Barros – UFRPE

Examinadores:

Clécio Souza Ramos – UFRPE

Iracilda Maria de Moura Lima – UFAL

César Auguste Badji – UFRPE/UAG

DEDICATÓRIA

A Gilberto Teodoro do Nascimento, por ser não apenas meu pai, mas também pela inigualável amizade. Por ser o maior incentivador que tive no caminho que trilhei até aqui. Sem ele nada disso seria possível...

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade de desenvolvimento do trabalho e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa.

Aos meus pais Gilberto e Cláudia pelo incentivo e por me proporcionar chegar até aqui. Aos meus irmãos Nayara e Leonardo pela amizade, pelas conversas, brincadeiras e confidências. Vocês têm papel fundamental em minha vida.

Ao meu namorado, por tudo o que ele representa, pelo apoio, amor e companheirismo demonstrado desde sempre, amo você.

Ao professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara, meu orientador, pelos ensinamentos, incentivo, idéias e pela paciência, amizade e crença em meu trabalho e por ser um exemplo de profissional para mim.

A todo o corpo docente, em especial ao professor José Vargas de Oliveira por ter ser além de um excelente professor, um amigo.

Aos meus amigos do PPGEA, em especial a Flávia Born (amiga desde o momento em que pisei no Laboratório de Biologia), Mário Jorge e Ana Paula por serem companheiros além do laboratório.

Aos meus amigos Izabela e Paula (Brongas), Camila Reis, Baju, Samuel e Rafael Valadares vocês são especiais e marcantes. Mas também a aqueles não citados aqui, mas que também tiveram comigo em momentos importantes, difíceis ou divertidos na estrada até aqui.

Aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, em especial a Marcílio Moraes e Roberta Santos sempre dispostos a ajudar.

Aos meus orientadores da graduação professor Germano Leão Demolin Leite e Paulo Sérgio Fiuza Ferreira, eu estar aqui é consequência direta dos seus ensinamentos e da admiração que sinto por profissionais como vocês.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	IX
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
LITERATURA CITADA.....	07
2 COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E ATIVIDADE ACARICIDA DE <i>Schinus terebinthifolius</i> DA MATA ATLÂNTICA DE PERNAMBUCO, BRASIL SOBRE <i>Tetranychus urticae</i>	15
RESUMO	16
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
AGRADECIMENTOS.....	26
LITERATURA CITADA.....	26
3 POTENCIAL INSETICIDA DO ÓLEO DOS FRUTOS MADUROS E IMATUROS DE <i>Schinus terebinthifolius</i> SOBRE <i>Rhizopertha dominica</i>	32
RESUMO	33
ABSTRACT	34
INTRODUÇÃO	35
MATERIAL E MÉTODOS	37

RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
AGRADECIMENTOS.....	45
LITERATURA CITADA.....	45

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A disseminação de genes de resistência cruzada e múltipla entre pragas de insetos tornou obsoleta parte dos inseticidas antes comumente utilizados. A estratégia mais viável para manter o controle adequado de pragas é o manejo integrado de pragas ou MIP. Além da evolução da resistência em populações de pragas, a utilização contínua e indiscriminada de inseticidas sintéticos tem gerado outros problemas imprevisíveis no momento da sua introdução tais como: intoxicação aguda e crônica de pessoas (aplicadores, trabalhadores rurais, e até mesmo os consumidores), destruição de peixes, aves e outros animais selvagens; interrupção do controle biológico natural e polinização; contaminação das águas subterrâneas extensas, potencialmente ameaçar a saúde humana e ambiental (Perry *et al.* 1998, Isman 2006).

Como resposta a estes problemas os governos criaram ações reguladoras, proibindo ou restringindo severamente uso de insumos mais prejudiciais e criando políticas para substituir esses produtos por aqueles que tem demonstrado apresentar menores riscos para a saúde humana e o ao meio ambiente. Essas mudanças no ambiente de regulamentação pareceram aumentar o ímpeto para a descoberta e desenvolvimento de alternativas para o manejo de pragas que ofereçam menos riscos à saúde humana, animal e ambiental. Dentre estas alternativas incluem-se os Inseticidas Botânicos.

De fato, a literatura científica dos últimos 25 anos descreve centenas de metabólitos secundários de plantas provenientes de espécies pertencentes às mais diversas famílias botânicas (Koul & Dhaliwal 2001, Regnault-Roger *et al.* 2005). Sendo assim, pesquisas recentes concentram seus esforços na busca de novos compostos derivados de plantas como alternativas aos inseticidas

convencionais. Um grande número de substâncias derivadas de plantas possui atividades fisiológicas e comportamentais contra insetos praga e podem fornecer novas fontes de inseticidas naturais. A utilização destes produtos tem demonstrado que é possível produzir uma grande variedade de atividades biológicas, incluindo a toxicidade, ação repelente e ação antialimentar (Huang & Ho 1998, Chiam *et al.* 1999, Sosa *et al.* 2000, Taponjoui *et al.* 2005).

A posição de destaque ocupada pelo Brasil, no que se refere ao abastecimento interno e externo de frutas, cereais e plantas ornamentais, tem incentivado a pesquisa de novas técnicas e métodos alternativos para o controle de pragas. O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, de um total estimado entre 350.000 a 550.000 (Simões *et al.* 2002). Especificamente em Pernambuco, uma das espécies de grande abundância e conhecida pelas suas propriedades biológicas são aquelas pertencentes ao gênero *Schinus* L. (Anarcadiaceae).

Este gênero é nativo da América do Sul e é abundantemente encontrado na costa do Brasil (Barbosa *et al.* 2007) e inclui aproximadamente 29 espécies (Barkley 1957). Conhecida popularmente por aroeira-vermelha, aroeira-mansa, aroeira-brasileira, *Schinus terebinthifolius* Raddi é uma árvore de porte médio, de folhas compostas e aromáticas, ocorre desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul em várias formações vegetais, sendo mais comum em margens de rios (Lorenzi 1992). Esta planta tem sido usada na medicina tradicional para o tratamento de diversas patologias (Bendaoud *et al.* 2010), inclusive como anti-inflamatório, cicatrizante (Matos 1997) e contra o câncer (Mesquita *et al.* 2009). Investigações recentes demonstraram que o extrato das cascas e dos frutos tem demonstrado propriedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas e inseticidas (Schmourlo *et al.* 2005, de Lima *et al.* 2006, de Mesquita *et al.* 2009). As sementes de *S. terebinthifolius* são ricas em óleo essencial e são basicamente constituídas por mono e sesquiterpenos (Campello & Marsaioli 1973). Óleos essenciais dessa espécie, provenientes de

diferentes sítios de coleta, têm sido previamente investigadas e algumas variações em sua composição têm sido observadas (Barbosa *et al.* 2007).

A partir do levantamento bibliográfico feito no banco de dados SciFinder (Chemical Abstract) em dezembro de 2011, usando como palavra-chave o termo: “*Schinus terebinthifolius*” seguido de “Essential Oil”, foram encontrados apenas 6 trabalhos referentes a estudos feitos com o óleo essencial avaliando seu potencial inseticida. A Tabela 1 apresenta a relação entre a composição química do óleo essencial de *S. terebinthifolius* e suas propriedades biológicas contra diferentes artrópodes. De acordo com as informações apresentadas nesta tabela, o efeito inseticida/repelente do óleo essencial de *S. terebinthifolius* tem sido pouco investigado sobre artrópodes-praga. De fato, nenhum relato foi encontrado para a propriedade do óleo essencial sobre importantes pragas tais como *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Rhyzopertha dominica* Fabricius (Coleoptera: Bostrichidae).

O ácaro rajado ou ácaro de duas manchas, *T. urticae*, é uma das principais pragas de culturas como algodão, feijão, pimentão, mamão, morango, maçã, pêsego, plantas ornamentais, entre outras. Durante o processo de alimentação, introduz os seus estiletes nos tecidos das plantas, injeta toxinas e reguladores de crescimento e suga o conteúdo celular extravasado (Flechtmann 1985), reduzindo a produtividade e a qualidade do material colhido. Dentre os ácaros que infestam as culturas brasileiras, o ácaro rajado *T. urticae* se destaca como praga de considerável importância econômica (Chiavegato *et al.* 1983, Souza Filho *et al.* 1994). Este ácaro se desenvolve na superfície abaxial das folhas e causa manchas avermelhadas na superfície adaxial; posteriormente ocorrem necrose e queda das folhas (Gallo *et al.* 2002), além de efeitos indiretos, afetando as características das fibras e das sementes (Oliveira & Calcagnolo 1975). Durante o seu desenvolvimento, os tetraniquídeos passam pelos estágios de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. Os estágios ninfais e adulto iniciam-se durante intervalos intercalados de inatividade

referidos como “protocrisálida”, “deutocrisálida” e “telocrisálida”. Na maioria das espécies de tetraniquídeos, a reprodução é sexuada, mas pode ocorrer partenogênese, onde fêmeas fertilizadas produzem fêmeas e as não fertilizadas, apenas machos (Flechtmann 1985).

Estudos mostram que essa espécie é uma praga comum em varias partes do mundo, em culturas de morango na Espanha representando 98% dos ácaros fitófagos identificados (García-Mari & González-Zamora 1999), em diversas culturas em Taiwan (HO 2000), nas culturas de pêra na Austrália (Hergstrom & Niall 1990) e em Washington, Estados Unidos da América, constitui a espécie mais abundante nos pomares de pêra e maçã (Beers *et al.* 1997). No Brasil, essa praga já foi registrada em diversos estados de norte a sul. Em Pernambuco, seu primeiro registro de ocorrência foi em 1985, após o início dos cultivos irrigados no município de Petrolina.

O besourinho dos cereais, *R. dominica*, é a mais importante praga de trigo armazenado atualmente no país (Gonçalves *et al.* 2000, Martinazzo *et al.* 2000, Faroni *et al.* 2004) e uma das pragas mais destrutivas de grãos armazenados em todo o mundo. É considerada praga chave em outros cereais como milho, sorgo, milho e arroz, inclusive em casca (Rees 1996, Faroni *et al.* 2004). Essa praga foi descrita pela primeira vez por Fabricius em 1792, como um pequeno besouro cilíndrico, alongado e estreito 2,3 mm a 2,8 mm de comprimento, de cor marrom. O ovo é alongado, ligeiramente oval e entre 0,2 mm e 0,6 mm. Sua cor é inicialmente branca, depois rosa, então, finalmente torna-se branco opaco novamente antes de eclodir. A larva inicialmente é branca, ligeiramente amarelada na cabeça. Possui movimentos ágeis com três pares de pernas bem desenvolvidas, o que é comum aos demais representantes da família Bostrychidae.

As larvas são muito ativas e facilmente penetram nos grãos atacados ou inteiros (Faroni & García-Mari 1992). O inseto adulto sai do grão alguns dias após o seu completo desenvolvimento. Potter (1985) fez um amplo estudo da biologia, distribuição, regiões zoogeográficas, hábitos alimentares e sistemática dessa praga. Birch (1945) e Birch & Snowball

(1945) realizaram estudos exaustivos sobre esse inseto: o efeito da temperatura e umidade relativa sobre o desenvolvimento, as causas de mortalidade de imaturos, efeitos da temperatura, umidade relativa e densidade de oviposição, em diversos parâmetros biológicos. Gołębiowska (1962) realizou estudos sobre a ecologia do besourinho dos cereais e observou que as fêmeas não põem ovos se a temperatura ambiente for inferior a 16 °C. A temperatura ideal de postura é entre 16 e 30 °C, sendo que nesta faixa de temperatura a postura de ovos aumenta.

O besourinho dos cereais, *R. dominica*, é uma espécie que apresenta ampla distribuição, desde os trópicos até regiões temperadas e encontra condições ideais de vida em regiões com 32°C e 80% de umidade relativa. Entretanto, pode sobreviver em grãos com teor de umidade menor que 8%. A duração de seu ciclo de vida varia entre 24 e 45 dias, com uma média de 33,3 dias (Faroni *et al.* 2000).

Tanto os adultos quanto as larvas causam danos diretos nos grãos, penetrando nesses através de perfurações no tegumento e produzindo uma grande quantidade de resíduos em forma de pó. O controle químico, principalmente na forma de fumigação, tem sido uma prática corriqueira na desinfestação de grãos armazenados infestados por insetos-praga como *R. dominica*, destacando-se a fosfina como o fumigante mais utilizado atualmente. Entretanto, relatos sobre o surgimento de mecanismos de resistência a tratamentos químicos em várias espécies de insetos associados à sua alta toxicidade aos animais e ao homem têm sido cada vez mais constantes. Trabalhos realizados por Pacheco *et al.* (1990) e Sartori *et al.* (1990) constataram a resistência à fosfina em populações *R. dominica* provenientes de diversos estados brasileiros. Lorini & Galley (1998) sugerem que parte da resistência em *R. dominica* é explicada por alterações no comportamento da linhagem resistente, provavelmente captando menor quantidade de inseticida de superfícies tratadas, por percorrerem distâncias menores. Além da resistência, a possibilidade de intoxicação dos operadores e a presença de resíduos nos alimentos levaram à busca de alternativas menos danosas

ao homem e que proporcionassem menor impacto ambiental. A utilização de acaricidas e inseticidas sintéticos, praticamente a única tática eficaz de controle do ácaro rajado e de *R. dominica*, tem trazido sérios problemas à saúde humana e de animais, bem como ao meio ambiente. A evolução da resistência desses artrópodes-praga aos acaricidas e inseticidas em curto intervalo de tempo depende, dentre outros fatores, do uso freqüente do mesmo produto (pressão de seleção), do elevado potencial reprodutivo (ácaro rajado), do ciclo de vida curto dos ácaros (Stark *et al.* 1997, Beers *et al.* 1997, Stumpf *et al.* 2001) e da grande capacidade de adaptação de *R. dominica* que pode sobreviver em grãos com teor de umidade menor que 8%, completando o ciclo de ovo a adulto no intervalo de 4 a 10 semanas (Faroni & Silva 2000).

Alternativas a esses inseticidas convencionais são necessárias para o controle de insetos e ácaros-praga que causem menos danos ao ambiente e que sejam menos tóxicos aos animais e ao homem. Vários estudos têm demonstrado diferentes abordagens para o manejo integrado de pragas, utilizando produtos naturais de origem vegetal como fontes promissoras na obtenção de inseticidas. O uso de diferentes partes do vegetal na forma de pós, extratos orgânico e aquoso, óleos fixos e voláteis tem sido reportado por suas propriedades biológicas, principalmente por serem tóxicos a vários tipos de artrópodes (Isman, 2006).

Entre esses produtos naturais, largamente investigados nas últimas décadas, destacam-se os óleos essenciais. Estes são geralmente obtidos pela técnica de hidrodestilação de diferentes partes da planta. Esses óleos são constituídos por uma mistura complexa de monoterpenos, sesquiterpenos, fenóis biogeneticamente relacionados e raramente de compostos nitrogenados e sulfurados que potencializam suas atividades. Desde a antiguidade, óleos essenciais têm sido utilizados na preparação de perfumes, como aditivos alimentares e para o controle de pragas agrícolas (Isman *et al.* 2011).

Os óleos essenciais de várias espécies botânicas e seus constituintes isolados tem sido mundialmente investigados para o controle de *T. urticae* e *R. dominica*. Cavalcanti *et al.* (2010) reportaram para o óleo de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) grande atividade fumigante (CL₅₀ = 0,01 µL/L de ar) para controle de *T. urticae*. Segundo estudo realizado por Araújo Júnior *et al.* (2010) *Citrus aurantium* L. demonstrou grande toxicidade com CL₅₀ de 1,63 µL/L de ar.

Os efeitos fumigante e repelente de óleo de *Ocimum gratissimum* L. e seus componentes, β - (Z) ocimeno e eugenol, foram testados contra adultos de *Sitophilus oryzae* (L.), *Tribolium castaneum* (Herbst), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) e *R. dominica* (Ogendo *et al.* 2008). O óleo essencial de orégano, *Origanum glandulosum* (Desf.), também demonstrou toxicidade de contato contra *R. dominica* (Khalfi *et al.* 2008). Lopez *et al.* (2008) analisando o potencial inseticida do óleo essencial das folhas de cinco diferentes variedades de *Ocimum basilicum* demonstraram que o componente (E)-anetol a 880 ppm foi tóxico para *R. dominica*.

Na busca de alternativas aos inseticidas convencionais utilizados para o controle de *T. urticae* e *R. dominica*, considerando o reconhecido potencial biológico do óleo essencial de *S. terebinthifolius* e escassez de estudos voltados ao controle dessas pragas, este estudo tem o objetivo de investigar a composição química do óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius* e avaliar sua ação letal e subletal sobre *T. urticae* e *R. dominica*. A relação entre as propriedades fumigante e os constituintes químicos dos óleos sobre *R. dominica* também foi avaliada.

Literatura Citada

Araújo Júnior, C.P., Camara, C.A.G., I.A. Neves, N.C. Ribeiro, C.A. Gomes, M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010. Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three *Citrus* species cultivated in NE Brazil. Nat. Prod. Commun. 5: 471-476.

- Barbosa, L.C.A., A.J. Demuner & A.D. Clemente. 2007.** Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius raddi*. Quim. Nova 30: 1959-1965.
- Barkley, F.A. 1957.** A study of *Schinus* L. Rev. Bot. 28:1-110.
- Beers, E.H., Andersen A. & R.D. Brown. 1997.** Absorption and translaminar activity of abamectin in apple and pear foliage as determined by spider mite (Acari: Tetranychidae) mortality. J. Econ. Entomol. 90: 566-573.
- Bendaoud, H., M. Romdhane, J.P. Souchard, S. Cazaux & J. Bouajila. 2010.** Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. J. Food Sci. 75: 466- 472.
- Birch, L.C. & J.G. Snowball. 1945.** The development of the eggs of *Rhyzopertha dominica* Fab. (Coleoptera). Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 23: 37- 40.
- Birch, L.C. 1945.** The influence of temperature, humidity and density on the oviposition of the small strain of *Calandra oryzae* L. and *Rhyzopertha dominica* Fab. (Coleoptera). Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 23: 197–203.
- Campello, J.P. & J.M. Marsaioli. 1973.** Triterpenes of *Schinus terebinthifolius*. Phytochemistry 13: 659- 660.
- Cavalcanti, S.C.H., E.S. Niculau, A.F. Blank, C.A.G. Câmara, I.N. Araújo & P.B. Alves. 2010.** Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). Bioresour. Technol. 101: 829-832.
- Chiam, W.Y., Y. Huang, S.X. Chen & S.H. Ho. 1999.** Toxic and antifeedant effects of allyldisulfide on *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). J. Econ. Entomol. 92: 239-245.
- Chiavegato, L.G., M.M. Mischán & M.P. Picinato. 1983.** Resistência do ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) proveniente de diferentes regiões algodoeirais aos acaricidas. Rev. Cient. 11: 57-62.
- Faroni, L.R.D., A.A.L. Silva & R.N.C. Guedes. 2000.** Modelling population growth of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) on stored wheat, p. 1028-1028. In XXI International Congress of Entomology. Foz do Iguaçu, Sociedade Entomológica do Brasil, 1402 p.
- Faroni, L.R.D'A. & F. García-Mari. 1992.** Influencia de la temperatura sobre los parámetros biológicos de *Rhyzopertha dominica* (F.). Bol. San. Veg. Plagas 18: 455-467.
- Faroni, L.R.D'A. & J.S. Silva. 2000.** Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados, p. 345-38. In J.S. Silva (ed.), Secagem e armazenagem de produtos agrícolas. Viçosa, Aprenda Fácil, 400p.

- Faroni, L.R.D., C.R.F.Oliveira, J.R. Gonçalves & M.A.G. Pimentel. 2004.** Influência da alimentação na biologia de *Rhyzopherta dominica* (Fabrícus) (Coleoptera: Bostrichidae. Rev. Bras. Armaz. 29: 13-18.
- Flechtmann, C.H.W. 1985.** Ácaros de importância agrícola. São Paulo, Nobel, 189 p.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. FEALQ. 920p.
- García-Marí, F. & J.E. González-Zamora. 1999.** Biological control of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with naturally occurring predators in strawberry plantings in Valencia, Spain. Exp. Appl. Acarol. 23: 487-495.
- Gołębiowska, Z. 1962.** Przyczynek do badań nad ekologią kaptownika zbożowca - *Rhizopertha dominica* F. (Col., Bostrichidae). Pol. Pismo Entomol. 25: 39-51.
- Gonçalves, R.A., J.P. Santos, P.K. Chandra & R. Germani. 2000.** Controle de *Rhyzopertha dominica* pela atmosfera controlada com CO₂, em trigo. Pesqu. Agropecu. Bras. 35: 1- 9.
- Hergstrom, K. & R. Niall. 1990.** Presence-absence sampling of twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) in pear orchards. J. Econ. Entomol. 83: 2032-2035.
- HO, C.C. 2000.** Spider-mite problems and control in Taiwan. Exp. Appl. Acarol. 24: 453-462.
- Huang, Y. & S.H. Ho. 1998.** Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against the grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. J. Stored Prod. Res. 3: 11-17.
- Isman, M. B., S. Miresmailli & C. Machial, 2011.** Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. Phytochem. Rev. 10: 197-204.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51: 45-66.
- Khalfi, O., N. Sahraoui, F. Bentahar & C. Boutekedjiret. 2008.** Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf.) essential oil from Algeria. J. Sci. Food Agric. 88: 1562-1566.
- Koul, O. & G.S. Dhaliwal. 2001.** Phytochemical biopesticides. Amsterdam, Harwood Academy, 223p.
- Lima, M.R., L.J. Souza, A.F. Santos, M.C. Andrade, A.E. Sant'Ana, J.P. Genet, B. M'arquez, L. Neuville & N. Moreau. 2006.** Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 105: 137- 147.

- Lima, R.A. 2009.** Perspectivas para o controle biológico de *Hypothenemus hampei* Ferrari utilizando o óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Monografia de Graduação. Porto Velho, Centro de Ensino São Lucas, 39p.
- Lopez, M. D., M.J. Jordan & M.J. Pascual-Villalobos, 2008.** Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. J. Stored Prod. Res. 44: 273-278.
- Lorenzi, H. 1992.** Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo, Plantarum. 8p.
- Lorini, I. & D.J. Galley. 1999.** Deltamethrin resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae), a pest of stored grain in Brazil. J. Stored Prod. Res. 35: 37-45.
- Martinazzo, A. P., L.P. D'A. Faroni, P.A. Berbert & F.P. Reis. 2000.** Utilização da fosfina em combinação com o dióxido de carbono no controle de *Rhyzopertha dominica* (F.). Pesqu. Agropec. Bras. 35: 1063-1069.
- Matos, F.J.A. 1997.** O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha. Fortaleza, EUFC, 270p.
- Mesquita, M.L., J.E. de Paula, C. Pessoa, M.O. de Moraes, L.V. Costa-Lotufo, R. Grougnet, S. Michel, F. Tillequin & L.S. Espindola. 2009.** Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. J. Ethnopharmacol. 123: 439-445.
- Mohamed, M.I. & S.A.M. Abdelgaleil. 2008.** Chemical composition and insecticidal potential of essential oils from Egyptian plants against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Appl. Entomol. Zool. 43: 599-607.
- Ogendo, J.O., M. Kostyukovsky, U. Ravid, U., J.C. Matasyoh, A.L. Deng, E.O. Omolo, S.T. Kariuki & E. Shaaya. 2008.** Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. J. Stored Prod. Res. 44: 328-334.
- Oliveira, C.A.L., & G. Calcagnolo. 1975.** Ação do ácaro "rajado" *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) na depreciação quantitativa da produção algodoeiro. Biológico 41: 307-327.
- Pacheco, I.A., M.R. Sartori & R.W.D. Taylor. 1990.** Levantamento de resistência de insetos-praga de grãos armazenados à fosfina, no estado de São Paulo. Coletânea do ITAL 20: 144-154.
- Perry, A.S., I. Yamamoto, I. Ishaaya & R.Y. Perry. 1998.** Insecticides in agriculture and environment: retrospects and prospects. Berlim, Springer-Verlag, 261p.

- Potter, C. 1985.** The biology and distribution of *Rhizopertha dominica* (Fab.). Trans. R. Entomol. Soc. Lond. 83: 449-482.
- Rees, D.P. 1991.** The effect of *Teretriosoma nigrescens* Lewis (Coleoptera: Histeridae) on three species of storage Bostrichidae infesting shelled maize. J. Stored Prod. Res. 27: 83-86.
- Regnault-Roger, C., B.J.R. Philogène & C. Vincent. 2005.** Biopesticides of plant origin. Lavoisier. Paris, Lavoisier, 313p.
- Santos, R.A.S., R.A. Lima, A.G. Silva, C.F. Fernandes, D.K.S. Lima, L.A.P. Sallet, C.A.D. Teixeira & V.A. Facundo. 2007.** Atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman. Porto Velho, Embrapa Rondônia. 13 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 48).
- Santos, R.B., E.R. Cole, V. Lacerda-Jr & H.R. & C.A.G. Câmara. 2008a.** Caracterização fitoquímica do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, p. 873. In 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia, SBQ, 1924 p.
- Santos, R.B., E.R. Cole, V. Lacerda-Jr & H.R. Resende. 2008b.** Atividade larvicida, inseticida e repelente do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, p.1645. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia, SBQ, 1924 p.
- Schmourlo, G., R.R. Mendonça-Filho, C.S. Alviano & S.S. Costa. 2005.** Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. J. Ethnopharmacol. 96: 563-568.
- Silva, A.B., T. Silva, E.S. Franco, S.A. Rabelo, E.R. Lima, R.A. Mota, C.A.G. Câmara, N.T. Pontes-Filho & J.V. Lima-Filho. 2010.** Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil From brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). Braz. J. Microbiol. 41: 158-163.
- Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosmann & J.C.P. Mello. 2002.** Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre, Ed. Universidade. 1104p.
- Sosa, M.E., C.E. Tonn, E. Guerreiro & O.S. Giordano. 2000.** Bioactividad de flavonoides sobre larvas de Tenebrio monitor. Rev. Soc. Entomol. Arg. 59: 179-184.
- Souza, Filho M.F., N. Suplicy Filho, M.E. Sato & A.P. Takematsu. 1994.** Suscetibilidade do ácaro rajado proveniente de videira de Pilar do Sul, SP, a diversos acaricidas. Pesqu. Agropecu. Bras. 29: 1187-1192.
- Stark, J.D., L. Tanigoshi, M. Bounfour & A. Antonelli. 1997.** Reproductive potential: its influence on the susceptibility of a species to pesticides. Ecotoxicol. Environ. Saf. 37: 273-279.

Stumpf, N., C.P.W Zebitz, W. Kraus, G.D. Moores & R. Nauen. 2001. Resistance to organophosphates and biochemical genotyping of acetylcholinesterases in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 69: 131-142.

Tapondjou, A.L., C. Adler, D.A. Fontem, H. & C. Bouda Reichmut. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *J. Stored Prod. Res.* 41: 91-102.

Tabela 1. Componentes majoritários e atividade biológica dos óleos essenciais extraídos de diferentes partes da espécie *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae).

Composto	(%)	Parte da planta	Atividade	Resultados	Referências
δ -3-careno	55,43%	Folhas	Larvicida (<i>Stegomyia aegypti</i>)	CL ₅₀ = 0,8622 g/mL	Silva <i>et al.</i> 2010
	30,37%	Frutos	Larvicida/contato Repelente	CL ₅₀ = 117,34 µg/mL DL ₅₀ = 26,20 µg C = 23,90 mg/mL	Santos <i>et al.</i> 2008a,b
<i>(E)</i> - β -cariofileno	17,5%	Folhas	Contato (<i>Hypothenemus hampei</i> Ferrari)	0,01 µL/ mL 90% (24h)/ 100% (48h)	Lima 2009
	17,5%	Folhas	Contato <i>Acanthoscelides obtectus</i> <i>Zabrotes subfasciatus</i>	10 ⁻⁵ a 10 ⁻² µL/ mL 100% (24h) 10 ⁻² e 10 ⁻³ µL/ mL 100% (24h e 48h)	Santos <i>et al.</i> 2007
δ -elemeno	10,3%	Folhas	Contato (<i>Hypothenemus hampei</i> Ferrari)	0,01 µL/ mL 90% (24h)/ 100% (48h)	Lima 2009.
	10,3%	Folhas	Contato <i>Acanthoscelides obtectus</i> <i>Zabrotes subfasciatus</i>	10 ⁻⁵ a 10 ⁻² µL/ mL 100% (24h) 10 ⁻² e 10 ⁻³ µL/ mL 100% (24h e 48h)	Santos <i>et al.</i> 2007
D germacreno	25%	Folhas	Contato (<i>Hypothenemus hampei</i> Ferrari)	0,01 µL/ mL 90% (24h)/ 100% (48h)	Lima 2009
	25%	Folhas	Contato <i>Acanthoscelides obtectus</i> <i>Zabrotes subfasciatus</i>	0,01 µL/ mL 90% (24h)/ 100% (48h) 10 ⁻⁷ a 10 ⁻² µL/ mL 100% (48h)	Santos <i>et al.</i> 2007
limoneno	17,44%	Frutos	Larvicida/ contato	CL ₅₀ = 117,34 µg/mL/ DL ₅₀ = 26,20 µg	Santos <i>et al.</i> 2008a,b
			Repelente	Conc. = 23,90 mg/mL	
γ -muuroleno	45,25%	Frutos	Inseticida (<i>Sitophilus oryzae</i>)	Contato Fumigante	Mohamed <i>et al.</i> 2008
			Inseticida (<i>Tribolium castaneum</i>)	Contato Fumigante	
α -pineno	12,59%	Frutos	Larvicida/ inseticida	CL ₅₀ = 117,34 µg/mL/ DL ₅₀ = 26,20 µg	Santos <i>et al.</i> 2008a,b

				Repelente	Conc. = 23,90 mg/mL	
α -terpineol	6%	Folhas	Inseticida (<i>Hypothenemus hampei</i> Ferrari)		0,01 μ L/ mL	Lima 2009
					90% (24h)/ 100% (48h)	
	6%	Folhas	Inseticida	<i>Acanthoscelides obtectus</i> 24h	0,01 μ L/ mL 90% (24h)/ 100% (48h)	Santos <i>et al.</i> 2007
				<i>Acanthoscelides obtectus</i> 48h <i>Zabrotes subfasciatus</i> 24h ou 48h	10^{-5} a 10^{-2} μ L/ mL 100% (24h) 10^{-7} a 10^{-2} μ L/ mL 100% (48h)	
α -Tujeno	15,95%	Frutos	Contato	CL_{50} = 0.42 μ g/ cm^2	Mohamed <i>et al.</i> 2008	
			Fumigante	CL_{50} = 56.48 μ L/ L		
			Contato	CL_{50} = 0.54 μ g/ cm^2		
			Fumigante	CL_{50} = 20.50 μ L/ L		

CAPÍTULO 2

COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E ATIVIDADE ACARICIDA DE *Schinus terebinthifolius* DA MATA ATLÂNTICA DE PERNAMBUCO, BRASIL SOBRE *Tetranychus urticae*¹

ALINE F. NASCIMENTO², CLÁUDIO A.G. CÂMARA³, MARCÍLIO M. MORAES³ E CLÉCIO S. RAMOS³

²Departamento de Agronomia – Entomologia Agrícola, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

³Departamento de Química – Produtos Naturais, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

¹ Nascimento, A.F, C.A.G Câmara, M.M. Moraes & C.S. Ramos. Essential oil composition and acaricidal activity of *Schinus terebinthifolius* from atlantic forest of Pernambuco, Brazil against *Tetranychus urticae*. Natural Product Communications.

RESUMO - As composições dos óleos essenciais dos frutos imaturos e maduros de *Schinus terebinthifolius* foram analisadas por GC e GC/MS. O composto majoritário identificado em ambos os óleos foi limoneno (Frutos imaturos = $44.1 \pm 1,3\%$; frutos maduros = $31,8 \pm 1,2\%$), seguido por α -phellandreno ($15.7 \pm 0,4\%$) no óleo extraído dos frutos imaturos e thujeno ($21,7 \pm 0,9\%$) no óleo dos frutos maduros. A atividade repelente e a toxicidade dos dois óleos também foram avaliadas e os resultados comparados com o eugenol. O óleo dos frutos imaturos foi mais ativo nos testes de fumigação ($CL_{50} = 1,46 \mu\text{L/L}$ de ar), enquanto que o óleo dos frutos maduros foi mais ativo no teste de contato em placas fechadas que no ensaio de contato com placas abertas ($CL_{50} = 3.04 \mu\text{L/cm}^2$) e não diferiram significativamente do eugenol. Ambos os óleos exibiram significativa atividade repelente comparável com o de eugenol. Os resultados sugerem que a atividade repelente desses óleos em associação com sua toxicidade pode ser de grande utilidade no manejo integrado de *T. urticae*.

PALAVRAS-CHAVE: Ácaro rajado, aroeira, limoneno, fumigação, atividade de repelência

ESSENTIAL OIL COMPOSITION AND ACARICIDAL ACTIVITY OF *Schinus terebinthifolius*
FROM ATLANTIC FOREST OF PERNAMBUCO, BRAZIL AGAINST *Tetranychus urticae*

ABSTRACT – The compositions of the essential oils from unripe and ripe fruits of *Schinus terebinthifolius* were analyzed by GC and GC/MS. The major compound identified in both oils was limonene (unripe fruits = $44.1 \pm 1.3\%$; ripe fruits = $31.8 \pm 1.2\%$), followed by α -phellandrene ($15.7 \pm 0.4\%$) in the unripe fruits oil and thujene ($21.7 \pm 0.9\%$) in the unripe fruits oil. Repellent and toxicity activities of the two oils were also evaluated, and the results compared with eugenol. The unripe fruits oil was more active in the fumigation tests ($LC_{50} = 1.46 \mu\text{L/L}$ of air), whereas the unripe fruits oil was more active in the sealed dishes (SD) than open dishes (OD) contact assay ($LC_{50} = 3.04 \mu\text{L/cm}^2$) and not significantly different from eugenol. Both oils exhibited significant repellent activity comparable with that of eugenol. The results suggest that the repellent activity of these oils in association with its toxicity could be a great advantage for the integrated management of *T. urticae*.

KEY WORDS: Two spotted spider mite, aroeira, limonene, fumigation, repellent activity

Introdução

Schinus terebinthifolius Raddi (Anarcadiaceae) é uma planta medicinal nativa presente nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e sul do Brasil (Matos 1997). No estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil), esta planta é comumente conhecida como aroeira e possui uma ampla distribuição em fragmentos de Mata Atlântica, especialmente florestas de planícies costeiras. O óleo essencial é usado sob a forma de loção, gel ou sabonete para limpeza da pele, como um antisséptico e no tratamento de micoses (Matos 1997). Suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e alopáticas têm sido demonstradas em testes laboratoriais (Gundidza *et al.* 2009, El-Massry *et al.* 2009, Silva *et al.* 2010, Bendaoud *et al.* 2010). Amostras do óleo essencial de *S. terebinthifolius* coletadas de diferentes regiões e extraídas de diferentes partes da planta comumente utilizadas na medicina popular (folhas e frutos), têm sido investigadas e variações em sua composição química têm sido observadas. A maioria das amostras do óleo extraído das folhas provaram ser rica em monoterpenos, como α -Pineno e limoneno (Jamal & Augusta 2001, Singh *et al.* 2005) predominante. Uma abundância de sesquiterpenos em folhas tem sido relatado em amostras coletadas no Brasil (Silva *et al.* 2010, Barbosa *et al.* 2007), Zimbábue e Egito (El-Massiry *et al.* 2004, Ibrahim *et al.* 2004). Na maioria dos óleos da fruta, a classe química predominante tem sido monoterpenos, com α -pineno (Lawrence 1984, Malik *et al.* 1994, Ritcher 2010), α -phellanderene (Bendaoud *et al.* 2010, Ibrahim *et al.* 2004, Ritcher *et al.* 2010) e δ -3-careno (Ibrahim *et al.* 2004, Lawrence 1984) como constituintes principais. Estes dados indicam a existência de vários quimiotipos de *S. terebinthifolium*, cultivada em diferentes regiões, o que justifica o estudo desta espécie ocorrendo em fragmentos de Mata Atlântica da costa do Estado de Pernambuco.

Tetranychus ruticae Koch, popularmente conhecido como ácaro rajado, é considerada uma importante praga em todo o mundo. No Brasil, este ácaro tem causado sérios danos às plantações

irrigadas na cidade de Petrolina (estado de Pernambuco), levando à significativas perdas econômicas. A pesquisa de óleos essenciais com propriedades acaricidas tem se intensificado nos últimos anos com o objetivo de descobrir compostos para substituir acaricidas convencionais no controle de ácaros de interesse agrícola (Neves & Câmara 2011). Como parte de um estudo sistemático da composição química e do potencial de acaricida dos óleos essenciais de plantas aromáticas que ocorrem na Mata Atlântica do Estado de Pernambuco, o objetivo do presente estudo foi descrever a composição química do óleo essencial obtido a partir de frutos maduros e imaturos de *S. terebinthifolius* e determinar sua ação tóxica e repelente contra *T. urticae*.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Ciências Moleculares e de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de março de 2010 a novembro de 2011.

Coleta de Materiais Vegetais. Frutas frescas foram coletadas de um fragmento de Mata Atlântica, na cidade do Recife, estado de Pernambuco, Brasil, em Junho de 2010. As plantas foram identificadas pela Dra. Maria Rita Cabral Sales de Melo do departamento de biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Uma exsicata da espécie foi depositada no herbário da UFRPE sob o número 49.259. Medições da rotação óptica dos óleos essenciais foram realizadas com um polarímetro digital (Modelo A. Krüss Px800) a 589 nm e 26 ° C, em soluções de diclorometano.

Isolamento dos Óleos Essenciais. Os óleos essenciais dos frutos imaturos (cor verde) e maduros (cor vermelha) (100 g cada) foram separadamente isolados por hidrodestilação usando um aparelho tipo Clevenger modificado por 2h. Os óleos essenciais foram separados da água e secos

com de sulfato de sódio anidro, e então armazenados em recipientes de vidro hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração a 5°C até a utilização nos ensaios e análises.

Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas. As análises quantitativas GC e qualitativa GC/SM e a identificação dos componentes foram realizadas utilizando a mesma metodologia de Neves & Câmara (2011).

Obtenção do Ácaro Rajado. Espécimes de *T. urticae* foram obtidos na criação localizada no Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco sem exposição anterior a qualquer pesticida. Os ácaros utilizados para todos os procedimentos experimentais foram criados sobre plantas de *Canavalia ensiformes* L. a uma temperatura de 25 ± 5 °C, $65 \pm 5\%$ de umidade e fotofase de 12h.

Bioensaios de Fumigação. A metodologia utilizada para os experimentos de fumigação foi adaptada de Aslan *et al.* (2004). Recipientes de vidro tipo bomboniere com capacidade de 2,5L foram utilizados como câmaras de fumigação. Três discos de folha de feijão-de-porco (2,5cm) foram colocados equidistantes em uma placa de Petri (9 cm) contendo um disco de papel de filtro saturado com água para evitar a fuga dos ácaros e manter a turgidez das folhas. Em cada disco de folha foram colocadas 10 fêmeas adultas do ácaro rajado. Cada placa de Petri foi colocada em uma câmara de fumigação, resultando em 30 ácaros por câmara de fumigação. Os óleos essenciais foram aplicados com o auxílio de pipetas automáticas em tiras de papel de filtro (10 x 2cm) presas à superfície interna da tampa da câmara de fumigação. A diluição dos óleos foi feita com a adição de diclorometano. No controle foi aplicado apenas diclorometano. Eugenol foi utilizado como controle positivo. Foram utilizadas concentrações entre 0,08 a 14,4 µL/ L de ar. Para cada concentração foram utilizadas três repetições, sendo cada repetição uma câmara de fumigação. As avaliações foram realizadas após um período de 24h de exposição. Os ácaros incapazes de caminhar uma distância superior ao comprimento do seu corpo após um leve toque com a

extremidade de um pincel de cerdas finas foram considerados mortos. O delineamento foi inteiramente casualizado. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit e as concentrações letais (CL_{50} s) estimadas utilizando-se o programa POLO - PC (LeOra 1987). A metodologia de Robertson & Preisler (1992) foi utilizada para o cálculo das razões de toxicidade, com seus respectivos intervalos de confiança a 95%, sendo consideradas significativas quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

Toxicidade de Contato. Foi avaliada utilizando o método por imersão (Pontes *et al.* 2007), com modificações. Discos de folhas de feijão de porco (*C. ensiformis*) foram utilizados em ensaios como suporte e alimento para os ácaros. As soluções (50 mL por óleo) foram preparadas por meio da diluição dos óleos ou eugenol em água destilada utilizando como dispersante, Tween 20 (0,1%). Foram utilizados dois métodos: placas abertas e fechadas. Para o teste em placas abertas, as concentrações dos frutos imaturos e maduros variaram de 0,2 a 20,4 $\mu\text{L/L/cm}^2$ e $8,16 \times 10^{-5}$ $\mu\text{L/L/20,4/cm}^2$, e para o de placas fechadas variaram de 0,2 a 10,2 mL/L/cm^2 e $8,16 \times 10^{-5}$ para 12,2 $\mu\text{L/L/cm}^2$, respectivamente. Discos de folha de feijão de porco (2,5 cm de diâmetro) foram imersos nas concentrações da solução de imersão (50 mL) por 30 segundos. Nada foi aplicado no tratamento de controle. Após a evaporação ao ar livre do solvente, os discos de folha foram individualmente transferidos para placas de Petri (diâmetro: 9 cm) contendo um disco papel filtro (8 cm) embebido em água destilada. Ácaros adultos foram colocados individualmente sobre os discos de folha. A mortalidade foi avaliada após 24h. Os ácaros foram considerados mortos quando incapazes de se deslocar por uma distância superior ao comprimento do seu corpo após um leve toque com a extremidade de um pincel de cerdas finas. Foram realizadas 3 repetições para cada concentração. Dados de mortalidade obtidos nestas experiências foram analisados com o modelo Probit para determinação de CL_{50} a 95% de intervalo de confiança de 95% (LeOra 1987).

Bioensaio de Repelência. A atividade repelente dos óleos essenciais foi realizada de acordo com metodologia adaptada de Nerio et al. (2009). As arenas foram confeccionadas a partir de placas de Petri (9 cm) com um disco de papel de filtro umedecido com água destilada. Discos de folhas de feijão de porco de 5 cm foram usados como suporte dos experimentos e fonte de alimento. Os discos de folhas foram inicialmente divididos em áreas iguais de 9,8 cm² com um espaço neutro de 0,3cm entre elas. Uma das áreas foi imersa na solução controle, contendo apenas etanol, e a outra área foi imersa na solução preparada a partir do óleo essencial diluído em etanol. Os discos de folhas permaneceram sobre papel de filtro durante um período de 10 minutos ao ar livre para a secagem e, em seguida, cada disco foi colocado em uma placa de Petri de 10 cm. Dez fêmeas adultas do ácaro rajado foram liberadas no espaço neutro de cada disco de folha e as placas de Petri foram fechadas. Quinze repetições foram realizadas, totalizando 150 ácaros por tratamento. O eugenol foi utilizado como controle positivo. As concentrações utilizadas variaram de 1.3×10^{-6} a 5 µL/L/cm². As avaliações foram realizadas após um período de exposição de 2h, através da contagem do número de ácaros no controle e no tratamento. Os valores das concentrações que repeliram 50% da população de ácaros (CR50) foram estimados através da análise de Probit calculadas pelo programa estatístico POLO - PC (LeOra 1987). As razões de toxicidade foram calculadas de acordo com Robertson & Preisler (1992), com seus respectivos intervalos de confiança a 95%, sendo considerada significativa quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

Resultados e Discussão

A partir do processo de hidrodestilação foram obtidos um óleo incolor e outro amarelo claro dos frutos imaturos e maduros, respectivamente. O melhor rendimento foi observado para o óleo dos frutos maduros ($2,8 \pm 0,3\%$). Estes resultados são diferentes daqueles relatados por Barbosa *et*

al. 2007, que encontraram mesmo rendimento para óleo de frutos maduros e imaturos. Os valores de rotação específica dos óleos de frutos de *Schinus* (imaturos = $26,41 \pm 0,02^\circ$; maduros = $26,41 \pm 0,02^\circ$). As análises de GC e GC-MS dos óleos revelaram um total de 41 substâncias, representando $97,0 \pm 1,3$ e $96,8 \pm 1,0\%$ da composição química dos óleos de frutos imaturos e maduros, respectivamente (Tabela 1). O perfil cromatográfico de óleos mostrou uma mistura complexa de componentes dos quais monoterpenos oxigenados (imaturos = $86,8 \pm 1,2\%$ e maduros = $87,9\% \pm 0,8$) tinham a contribuição mais elevada. O principal constituinte dos óleos de frutos imaturos e maduros foram limoneno ($44,1 \pm 1,3\%$, $31,8 \pm 1,2$), seguido pelo α -phellandreno ($15,7 \pm 0,4\%$ / $11,9 \pm 0,8\%$) e thujeno ($3,0 \pm 0,1\%$ / $21,7 \pm 0,9\%$). Sabineno, o terceiro componente principal em óleo dos frutos maduros ($15,8 \pm 0,3\%$), não foi encontrado no óleo dos frutos imaturos. Ambos os óleos exibiram praticamente os mesmos componentes principais, entretanto, o óleo dos frutos maduros tem uma maior diversidade de componentes químicos, com 10 compostos encontrados apenas neste óleo, dentre os qual sabineno representou $15,8 \pm 0,3\%$ do óleo. Os nove restantes estavam presentes em quantidades inferiores a 1%.

A composição química do óleo dos frutos maduros no presente estudo difere tanto quantitativa quanto qualitativamente de amostras recolhidas no estado de Minas Gerais (Sudeste do Brasil) (Barbosa *et al.* 2007). δ -3-careno (29,22%) e β -phellandreno (18,08%) foram encontrados em grandes quantidades assim em Minas Gerais, entretanto, estes monoterpenos não foram encontrados no óleo dos frutos maduros no presente estudo. Em contraste, o principal componente deste óleo, limoneno ($31,8 \pm 1,2\%$), não foi encontrado em Minas Gerais. Há também variações nas percentagens de alguns monoterpenos entre duas amostras. Os principais componentes do óleo dos frutos maduros, α -thujeno ($21,7 \pm 0,9\%$) e sabineno ($15,8 \pm 0,3\%$), foram encontrados em baixa quantidade na amostra de Minas Gerais (0,21% e 3,25%, respectivamente). Estes resultados indicam diferenças na composição química do óleo dos frutos desta espécie ocorrendo em

diferentes regiões do Brasil. Na verdade, a grande porcentagem de limoneno, β -phellandreno e thujeno no presente estudo sugerem a ocorrência de um quimiotipo diferente daquele encontrado para *S. terebinthifolius* em outras regiões do país. Os óleos dos frutos de aroeira demonstraram toxicidade e afetaram o comportamento do ácaro rajado. A toxicidade variou de acordo com o óleo empregado. Ambos os óleos demonstraram um potente efeito repelente. Tabela 2 exhibe a atividade letal dos diferentes óleos em comparação com eugenol, o controle positivo. Análise Probit, revelou que o valor de CL_{50} para o óleo de frutos imaturos (1,46 $\mu\text{L/L}$ de ar) foi 4,6 vezes mais tóxico na fumigação que o óleo de frutos maduros.

Estes resultados sugerem que os vapores de tais óleos são tóxicos sem contato direto com o ácaro. Comparando estes resultados com o controle positivo, o valor de CL_{50} estimado para eugenol (0,004 $\mu\text{L/L}$ de ar) demonstra que o controle positivo foi 365 vezes mais potente do que o óleo dos frutos imaturos. No entanto, as diferenças de toxicidade entre os óleos e o eugenol diminuíram drasticamente no teste de contato em placas abertas e em placas fechadas. Os valores de CL_{50} nestes testes revelam que os ácaros foram mais suscetíveis aos óleos no teste em placas fechadas, contudo os valores de CL_{50} para o óleo dos frutos imaturos não diferiram significativamente entre os testes em placas fechadas e abertas. Resultado semelhante foi observado com o controle positivo. No teste em placas fechadas, o óleo dos frutos maduros (3,04 $\mu\text{L/cm}^2$) demonstrou ser quase duas vezes mais tóxico que o óleo dos imaturos (6,03 $\mu\text{L/cm}^2$). Os valores da CL_{50} no teste em placas abertas para estes óleos não diferiram significativamente (Tabela 2). O óleo dos frutos maduros se mostrou mais tóxico no teste de contato e o dos frutos imaturos no de fumigação.

A inclinação da reta nas curvas concentração-mortalidade correspondente às respostas de mortalidade de Probit foi mais elevada para estes óleos, sugerindo uma maior uniformidade na resposta da população de ácaros para as respectivas concentrações de óleos (Fig. 1). Na

comparação de toxicidade entre os óleos de *Schinus* e o controle positivo no teste de contato com placas abertas, o eugenol demonstrou ser 2,5 vezes mais tóxico. No teste de contato com placas fechadas, no entanto, os valores das CL₅₀ para eugenol (1,80 µL/L/cm²) e o óleo dos frutos maduros (3.04 µL/L/cm²) não diferiram estatisticamente. Esse achado indica maior toxicidade de eugenol na fase de vapor do que através de uma ação residual. Além disso, a toxicidade observada para o óleo dos frutos maduros no teste de placas fechadas não resulta apenas da sua ação na fase de vapor, mas também da ação residual de outros componentes no óleo. A ação dos óleos sobre o comportamento de *T. urticae*, avaliada no teste de repelência, revelou que ambos os óleos exibiram forte atividade repelente, mas a CR₅₀ destes óleos não diferiram estatisticamente entre si ou entre eles e o controle positivo.

Os principais constituintes dos óleos dos frutos de *Schinus*, como o limoneno, α -phellandreno e sabineno, são conhecidos por possuir ação fumigante e de contato contra pragas de produtos armazenados (Park *et al.* 2003). Estudos relativos a estrutura e a atividade de alguns monoterpenos contra *T. urticae* (Badawy *et al.* 2010) demonstraram a forte atividade do limoneno tanto nos testes de fumigação quanto nos de contato. Da mesma forma, a ação repelente de monoterpenos tem sido relatada na literatura, incluindo o limoneno (Nerio *et al.* 2009). Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que o óleo essencial de *S. terebinthifolius* do estado de Pernambuco (Brasil) é um novo quimiotipo, rico em limoneno, α -phellandreno e thujeno. Diferentes modos de ação foram observados para os óleos de *Schinus*. Os vapores do óleo demonstraram toxicidade, também demonstrada através do contato direto pelos tarsos e pela ingestão de alimentos. A forte toxicidade através de fumigação e contato, junto com a ação repelente dos óleos dos frutos de aroeira, testados neste estudo, demonstrou o potencial destes óleos para o desenvolvimento de um biopesticida alternativo aos acaricidas sintéticos para utilização no manejo integrado do ácaro rajado.

Agradecimentos

A todos os alunos do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, pelo auxílio nas coletas e obtenção dos óleos essenciais. Ao CNPq pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor. À Dra. Maria Rita Cabral Sales de Melo do Herbário Sobrinho de Vasconcelos da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela identificação das espécies vegetais.

Literatura Citada

- Araujo-Junior, CP., C.A.G. Camara, I.A. Neves, N.C. Ribeiro, C.A. Gomes, M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three *Citrus* species cultivated in NE Brazil. *Nat. Prod. Commun.* 5: 471-476.
- Aslan, I., H. Ozbek, O. Çalmasur F. Sahdn. 2004.** Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Ind. Crop Prod.* 19:167-173.
- Badawy, M.E.I., S.A.A, El-Arami & S.A.M, Abdel. 2010.** Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Entomol.* 52: 261-274.
- Barbosa, L.C.A., A.J. Demuner, A.D. Clemente, F.V. de Paula & F.M.D. Ismail. 2007.** Season variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Quim. Nova* 30: 1959-1965.
- Bendaoud, H., M. Romdhane, J.P. Souchard, S. Cazaux & J. Bouajila. 2010.** Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus Molle* L. and *Schinus Terebinthifolius* Raddi berries essential oils. *J. Food Sci.* 75: 466-472.
- Chowdhury, A.R. & S. Tripathi. 2001.** Essential oil from leaves of *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Indian Perfume* 45: 257-259.
- El-Massry, K.F., A.H. El-Ghorab, H.A. Shaaban & T. Shibamoto. 2009.** Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. *J. Agric. Food Chem.* 57: 5265–5270.
- Flamini, G. 2006.** Acaricides of natural origin. Part 2. Review of the literature (2002-2006). *Nat. Prod. Commun.* 21: 1151–1158.

- Gundidza, M., N. Gweru, M.L. Magwa, V. Mmbengwa & A. Samie. 2009.** The chemical composition and biological activities of essential oil from the fresh leaves of *Schinus terebinthifolius* from Zimbabwe. African J. Biotechnol. 8: 7164-7169.
- Ibrahim, M.T., R. Fobbe., J. Nolte. 2004.** Chemical composition and biological studies of Egyptian *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi oils. Bulletin of the Faculty of Pharmacy. 42: 289-296.
- Jamal, Y. & A. Augusta. 2001.** Chemical composition of essential oil *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves. Indonesian J. Pharm. 12: 135-139.
- Lawrence, B.M.A. 1984.** A discussion of *S. molle* and *S. terebinthifolius*. Perfum. Flavor 9: 65-9.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC a User's Guide to Probit or Logit Analysis. Computer Software. Berkeley: LeOra Software.
- Malik, M.S., S. Mahmud., A. Satter. 1994.** Studies on the essential oil of *Schinus terebinthifolius*. Forensic Sci. Int. 6: 351–352.
- Matos F.J.A. 1997.** O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha. Fortaleza, EUFC, 123p.
- Miresmailli, S. & M.B. Isman. 2006.** Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two-spotted spider mite (acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. J. Econ. Entomol. 99: 2015-2023.
- Nerio, L.S., J. Olivero-Verbel., E. Stashenko. 2009.** Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). J. Stored Prod. Res. 45: 212-214.
- Neves, I.A. & C.A.G. da Camara. 2011.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and essential oil composition of four *Croton* species from Caatinga Biome in Northeastern Brazil. Nat. Prod. Commun. 6: 893-899.
- Park, I.K., S.G. Lee., D.H. Choi., J.D. Park., Y.J. Ahn. 2003.** Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). J. Stored Prod. Res. 39: 375–384.
- Pontes, W.J.T., J.C.S. Oliveira., C.A.G. Camara., A.C.H.R. Lopes., M.G.C. Godim-Júnior, J.V. Oliveira. & M.O.E. Schwartz. 2007.** Composition and acaricidal activity of the resin's essential oil of *Protium bahianum* Daly against two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). J. Essent. Oil Res., 19: 379-383.
- Richter, R., S.H. Von Reuß., W.A. König. 2010.** Spirocyclopropane-type sesquiterpene hydrocarbons from *Schinus terebinthifolius* Raddi. Phytochem. 71: 1371–1374.

Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992. Pesticide bioassays with arthropods. California, CRC Press, 127p.

Santos, A.C.A., M. Rossato, L.A. Serafini, M. Bueno, L.B. Crippa, V.C. Sartori, E. Dellacassa & P. Moyna. 2010. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. Brazilian J. Pharmacog. 20: 154-159.

Santos, A.C.A., M. Rossato., L.A. Serafini., M. Bueno., L.B. Crippa., V.C. Sartori., E. Dellacassa., P. Moyna. 2010. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. Brazilian J. Pharmacog.. 20: 154-159.

Silva, A.B., T. Silva, E.S. Franco, S.A. Rabelo, E.R. Lima, R.A. Mota, C.A.G. Camara, N.T. Pontes-Filho & J.V. Lima-Filho. 2010. Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). Braz. J. Microbiol. 41: 158-163.

Singh, A.K., J. Singh., K.C. Grupta., J.J. Brophy. 1998. Essential oil of leaves and inflorescence of *Schinus terebinthifolius*: An exotic plant of India. J. Essent. Oil Res. 10: 697-699.

Tabela 1. Proporção de constituintes e rotação óptica dos óleos essenciais dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

Compostos redimentos ¹ (%)		Frutos imaturos	Frutos maduros
$[\alpha]_D^{25}$ (c.=1,CH ₂ Cl ₂)	I.R. ²	1,8 ± 0,02°	2,8 ± 0,3
		+26,4 ± 0,02°	+26,4 ± 0,02°
Santolina trieno	910	-	0,3 ± 0,0
Tujeno	920	3,0 ± 0,1	21,7 ± 0,9
α-Pineno	937	-	0,4 ± 0,0
Verbeneno	958	0,4 ± 0,0	1,1 ± 0,1
Sabineno	970	-	15,8 ± 0,3
β-Pineno	975	2,2 ± 0,2	1,6 ± 0,2
α-Felandreno	1002	15,7 ± 0,4	11,9 ± 0,8
Isso-Silvestreno	1003	3,9 ± 0,5	0,1 ± 0,0
α-Cinemo	1018	1,0 ± 0,0	0,3 ± 0,0
Limoneno	1024	44,1 ± 1,3	31,8 ± 1,2
β-(Z)-Ocinemo	1034	-	0,1 ± 0,0
β-(E)-Ocinemo	1046	-	0,1 ± 0,0
p-Mentha-3,8-dieno	1073	-	0,4 ± 0,0
Terpinoleno	1091	0,9 ± 0,0	0,1 ± 0,0
Terpineol	1126	2,5 ± 0,2	0,2 ± 0,0
Virideno	1164	0,8 ± 0,0	-
α-Terpineol	1192	1,7 ± 0,3	0,6 ± 0,0
Trans-p-Mentha-1(7).8-dien-2_ol	1186	-	0,1 ± 0,0
Cis-4-Caranone	1205	1,1 ± 0,2	0,3 ± 0,0
β-Cyclocitral	1219	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0
Carvone	1234	1,1 ± 0,0	0,3 ± 0,0
Neo-Mentyl acetate	1274	1,0 ± 0,3	0,3 ± 0,0
α-Terpinen-7-al	1278	0,6 ± 0,0	-
p-Cymen-7-ol	1294	2,5 ± 0,1	-
Trans-Pinocarvyl acetato	1303	0,5 ± 0,0	-
Vernail acetato	1317	1,2 ± 0,3	0,2 ± 0,0
Myrtenil acetato	1320	1,1 ± 0,1	-
(E)-Patchenol	1329	0,4 ± 0,1	-
α-Cubebeno	1348	3,2 ± 0,6	0,3 ± 0,0
β-Longipineno	1397	-	0,2 ± 0,0
Allo-Aromadendreno	1455	0,7 ± 0,1	1,6 ± 0,3
δ-Cadineno	1521	0,8 ± 0,1	1,2 ± 0,0
Nerolidol	1558	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,1
Spathulenol	1577	-	0,3 ± 0,0
β-Copaen-4-α-ol	1590	0,8 ± 0,2	0,3 ± 0,0
Carotol	1597	-	0,5 ± 0,0
Guaiol	1600	2,0 ± 0,3	1,7 ± 0,1
Atlantol	1612	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,0
Isolongifolan-7-ol	1615	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0
10-epi-γ-Eudesmol	1623	2,8 ± 0,6	1,9 ± 0,1
γ-Eudesmol	1626	0,3 ± 0,0	0,1 ± 0,0
allo-Aromadendreno epoxide	1636	-	0,1 ± 0,0
Monoterpenos hidrocarbonetos		71,7 ± 1,0	85,5 ± 0,6
Monoterpenos oxigenados		14,1 ± 0,2	2,2 ± 0,3
Sesquiterpenos hidrocarbonetos		1,5 ± 0,5	3,0 ± 0,1
Sesquiterpenos oxigenados		9,8 ± 0,9	5,9 ± 0,1
Total		97,4 ± 1,3	96,6 ± 1,0

¹Constituintes listados com base na eluição em coluna de DB-5 não polar; ²Índices de retenção.

Tabela 2. Toxicidade por fumigação (CL_{50} em $\mu\text{L/L}$ air) e contato (CL_{50} in $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) em placas de Petri abertas e fechadas, bem como a repelência (CR_{50} in $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) dos frutos maduros e imaturos de *S. terebinthifolius* contra *T. urticae*.

Óleo/composto	n	Gl	Inclinação da reta	Fumigação LC_{50} (IC 95%)	χ^2	RT_{50} (CI 95%)
Frutos imaturos	630	5	1,60	1,46 (1,16 - 1,78)	2,41	365(299,8-456,7)
Frutos maduros	522	4	5,95	6,71(6,23 - 7,17)	2,38	1677,5(1345,6-876,3)
Eugenol	580	5	-	0,004 (0,002 - 0,008)	2,50	-
Óleo/composto	n	Gl	Inclinação da reta	Contato LC_{50} (IC 95%)	χ^2	RT_{50} (CI 95%)
Frutos maduros Placas fechadas	539	4	2,88	3,04 (1,65 - 3,95)	1,88	1,7 (0,11-3,15)
Frutos maduros Placas abertas	539	4	3,39	7,29 (6,52 - 8,09)	0,40	4,10(2,34-5,24)
Frutos imaturos Placas fechadas	540	4	5,74	6,03 (5,59 - 6,42)	2,66	3,35(1,9-4,01)
Frutos imaturos Placas abertas	537	4	3,84	7,44 (6,68 - 8,16)	0,73	4,13(3,17-6,13)
Eugenol Placas fechadas	199	5	2,15	1,80 (1,29 - 2,63)	5,68	-
Eugenol Placas abertas	249	7	2,19	2,91 (2,16-3,84)	7,25	1,61(0,14-2,92)
Óleo/composto	n	Gl	Inclinação da reta	Repelência RC_{50} (IC 95%)	χ^2	RT_{50} (CI 95%)
Frutos maduros	450	4	0,36	0,003 (0,001 - 0,005)	2,21	1,5 (0,98-2,52)
Frutos imaturos	538	4	0,35	0,005 (0,001 - 0,006)	1,77	2,8 (1,54-3,24)
Eugenol	874	4	0,36	0,002 (0,001- 0,004)	1,85	-

n = Número de ácaros/concentração; Gl= Grau de liberdade CI = Intervalo de confiança; χ^2 = qui-quadrado; RT= Razão de toxicidade, calculada pelo método de Robertson & Preisler (1992).

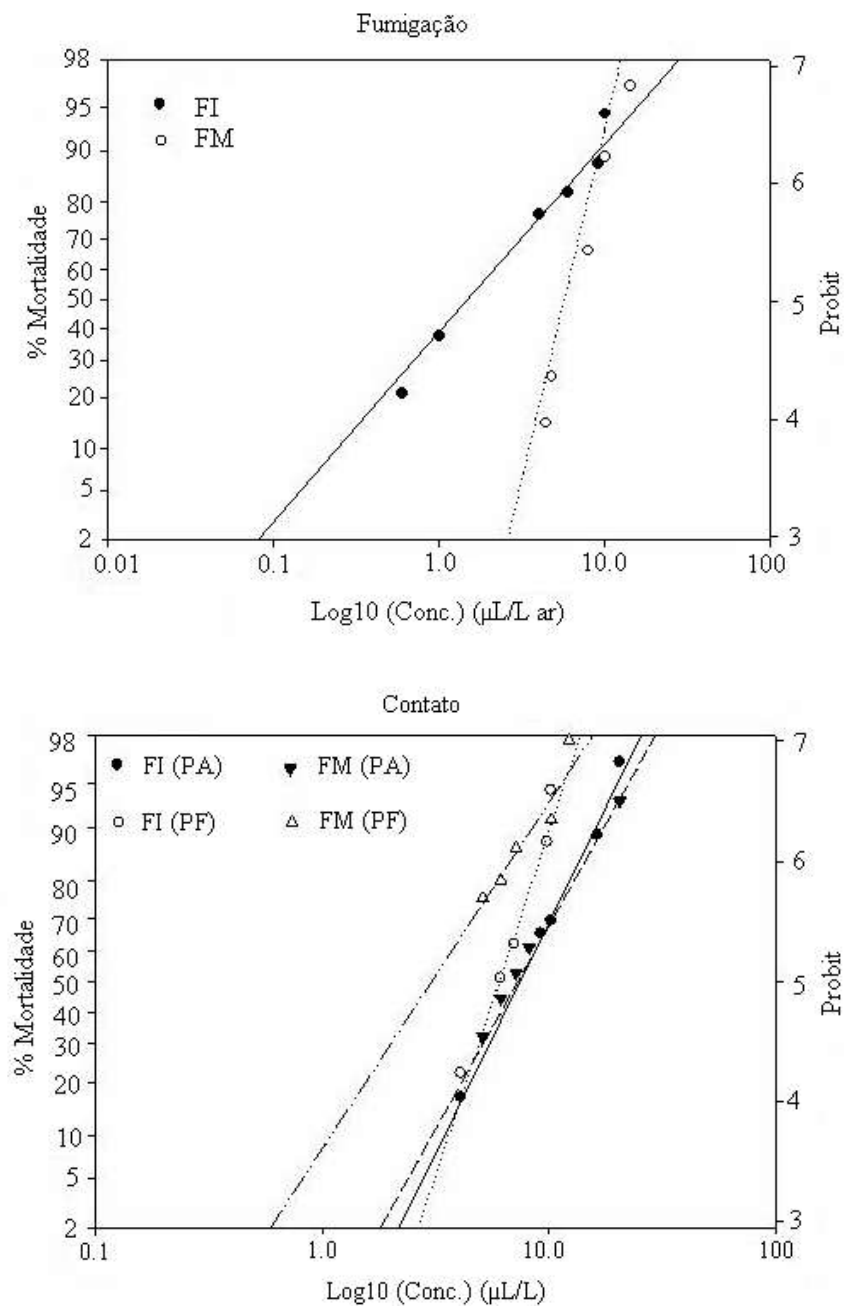


Figura 1. Resultados de análise Probit, curvas concentração-mortalidade da susceptibilidade de *Tetranychus urticae* ao óleo dos frutos maduros (FM) e imaturos (FI) de *S. terebinthifolius* em bioensaios de fumigação e contato com placas abertas (PA) e fechadas (PF).

CAPÍTULO 3

POTENCIAL INSETICIDA DO ÓLEO DOS FRUTOS MADUROS E IMATUROS DE

Schinus terebinthifolius SOBRE *Rhyzopertha dominica*¹

ALINE F. NASCIMENTO², CLÁUDIO A.G. CÂMARA³ E CLÉCIO S. RAMOS³

²Departamento de Agronomia – Entomologia Agrícola, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n,
52171-900 Recife, PE.

³Departamento de Química – Produtos Naturais, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-
900 Recife, PE.

¹Nascimento, A.F., C.A.G Câmara & C.S. Ramos. Potencial inseticida dos frutos maduros e imaturos de *Schinus terebinthifolius* sobre *Rhyzopertha dominica*. A ser submetido a Crop Protection.

RESUMO - Considerando a escassez de estudos sobre o potencial inseticida de óleos essenciais extraído dos frutos de aroeira, bem como a demanda por novas formas de controle do besourinho-dos-cereais, este trabalho teve por objetivo avaliar as propriedades inseticidas dos óleos essenciais obtidos a partir dos óleos essenciais dos frutos maduros (OEFM) e imaturos (OEFI) de *S. terebinthifolius*, em diferentes tempos de exposição. Constituintes principais e minoritários foram também avaliados individualmente no período de exposição de 72h. O OEFI foi repelente a 25, 35 e 45 $\mu\text{L}/2\text{g}$ e surpreendentemente, o óleo dos frutos maduros se mostrou atraente na menor concentração testada (15 $\mu\text{L}/2\text{g}$) e repelente nas mais altas (30 e 50 $\mu\text{L}/2\text{g}$). Ambos apresentaram ação repelente mais efetiva que o controle positivo. Na fumigação não houve diferença estatística entre os óleos testados e *R. dominica* foi mais susceptível após 72h de exposição ($\text{CL}_{50} = 22,21 \mu\text{L}/\text{L}$ para frutos imaturos e $\text{CL}_{50} = 23,36 \mu\text{L}/\text{L}$ para maduros). O limoneno, componente principal dos OEFI/OEFM (44,1%/31.8%), seguindo do constituinte minoritário terpinoleno (0,9%/0.1%); alcançaram o mesmo nível de toxicidade encontrado para estes óleos. Para o OEFM, além do limoneno e terpinoleno, o α -pineno (0.4 %) e β -pineno (1.6%) também apresentaram toxicidade no mesmo nível do que o óleo essencial. A toxicidade de misturas artificiais e a discussão do papel de mono e sesquiterpenos na propriedade inseticida sobre *R. dominica* também é apresentada nesse trabalho.

PALAVRAS-CHAVE: Besourinho dos cereais, frutos de aroeira, óleo essencial, ação inseticida

INSECTICIDAL POTENTIAL OF THE RIPE AND UNRIPE FRUITS OF *Schinus terebinthifolius*
ON *Rhyzopertha dominica*

ABSTRACT – Considering the paucity of studies on the insecticidal potential of essential oils extracted from fruits of *Schinus* and the demand for new forms of control beetle-of-grains, this study aimed to evaluate the insecticidal properties of essential oils from ripe fruit (EORF) and unripe (EOUF) *S. terebinthifolius*, at different exposure times. Major and minor constituents were also evaluated individually in the exposure period of 72h. The EOUF was repellent to 25, 35 and 45 $\mu\text{L}/2\text{g}$) and, surprisingly, the oil of the EORF proved attractive in the lower concentration tested (15 $\mu\text{L}/2\text{g}$) and repellent at the highest (30 and 50 $\mu\text{L}/2\text{g}$). Both showed repellent action more effective than the positive control. In spraying there was no statistical difference between the oils tested and *R. dominica* was more likely after 72h of exposure ($\text{LC}_{50} = 22.21 \mu\text{L}/\text{L}$ for EOUF and $\text{LC}_{50} = 23.36 \mu\text{L} / \text{L}$ for EORF). Limonene, the main component of EOUF/EORF (44.1% / 31.8%) following the minority constituent terpinolene (0.9%/0.1%), has reached the same level of toxicity found for these oils. For EORF, besides limonene and terpinolene, α -pinene (0.4%) and β -pinene (1.6%) also showed toxicity to the same level as the essential oil. The toxicity of artificial mixtures and discussion of the role of mono and sesquiterpenes in the insecticidal properties of *R. Dominica* is also presented in this work.

KEY WORDS: beetle cereals, aroeira fruits, essential oil, insecticidal action

Introdução

O trigo, *Triticum aestivum* L., é uma das principais fontes de energia para a população mundial. Seus derivados, tais como farinha, biscoitos e macarrão, são amplamente consumidos devido aos seus baixos custos (Gonçalves *et al.* 2000). Entretanto, grandes perdas são contabilizadas durante o seu armazenamento devido às ocorrências das traças e gorgulhos. A infestação da semente, comumente iniciada no campo, vai encontrar condições favoráveis para o seu desenvolvimento nos armazéns. Segundo Hall (1971), nos países tropicais e subtropicais é comum a deterioração das sementes, manifestadas pela perda de peso, transformações químicas e pela presença de excrementos e fragmentos de insetos, que prejudicam o produto, depreciando-o comercialmente. Existem dois importantes grupos de pragas que atacam o trigo armazenado, os besouros e as traças. As espécies de traças mais importantes são: *Sitotroga cerealella* Oliver (Lepidoptera: Gelechiidae), *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae), *Ephestia kuehnilla* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) e *Ephestia elutella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). Entre os besouros encontram-se as espécies *Rhyzopertha dominica* Fabricius (Coleoptera, Bostrichidae), *Sitophilus oryzae* Linné (Coleoptera: Curculionidae) e *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) (Rocha Júnior 2003).

A *R. dominica* (Fabricius 1792) (Coleoptera: Bostrichidae), também conhecida como besourinho-dos-cereais, é a principal praga de trigo armazenado no Brasil e a mais importante economicamente (Faroni *et al.* 2004). Tanto os adultos quanto as larvas deste besouro penetram através de perfurações no tegumento das sementes, produzindo grandes quantidades de resíduos em forma de pó, causando danos diretos aos grãos. Este inseto é uma praga primária e possui elevado potencial de danificação de grãos de trigo, chegando a destruir de 5 a 6 vezes o seu peso em uma semana (Poy 1991).

Várias culturas são hospedeiras de *R. dominica* tais como: trigo, cevada, triticale, arroz e aveia. É a principal praga da pós-colheita do trigo no país com alta incidência e de difícil controle. O controle preventivo desta praga é feito com pós inertes ou inseticidas químicos como deltametrina e o controle curativo é feito com fumigantes principalmente a fosfina. Entretanto, falhas de controle à esta praga têm sido observados sendo o principal motivo a resistência dessa espécie ao inseticida deltametrina (Lorini & Galley 1999) e aos diversos grupos de inseticidas usados para seu controle, como a fosfina (Pacheco *et al.* 1990, Sartori *et al.* 1990, Guedes *et al.* 1996, Guedes *et al.* 1997). Este fumigante apresenta ainda outras desvantagens como a corrosão de metais não ferrosos, demanda de longo tempo de aeração, inflamabilidade em altas concentrações e toxicidade aguda aos mamíferos; pode, também, provocar depreciação do produto fumigado (Santos 1995). A partir do registro dos primeiros casos de resistência de pragas a pesticidas no mundo, expressivos estudos têm sido desenvolvidos na área, porém com modesto progresso em relação às medidas práticas para retardar a evolução do problema. Segundo Dethier *et al.* (1960), vários são os fatores que selecionam para a resistência, sendo os inseticidas sintéticos aqueles que exercem a maior pressão seletiva, especialmente quando usados de forma inadequada. Desta forma, outros métodos têm sido estudados, incluindo-se, entre eles, o emprego de inseticidas naturais, método com menor agressividade e menor pressão de seleção sobre insetos praga.

A utilização de produtos vegetais com atividade inseticida promove, nos insetos, ação diversificada tais como: repelência, fago inibição, inibição do crescimento, alterações no comportamento sexual, esterilização dos adultos, mortalidade na fase imatura ou adulta, como já foi demonstrado em muitos trabalhos tais como Benzi *et al.* (2009) em que os óleos essenciais extraídos das folhas de *Aloysia polystachya* e *A. citriodora* (Verbenaceae) e de folhas e frutos de *Schinus molle* (Anacardiaceae) demonstraram alta toxicidade de contato e repelência para os adultos de *R. dominica*. Nenhum relato tem sido encontrado na literatura científica sobre a

atividade inseticida do óleo essencial extraído dos frutos maduros e imaturos de *Schinus terebinthifolius* sobre *R. dominica*, embora os extratos e óleos essenciais de suas folhas tenham sido investigados quanto ao potencial para o controle de pragas de interesse agrícola (Lima 2009, Santos *et al.* 2007, Mohamed *et al.* 2008).

Sendo assim, considerando a escassez de estudos sobre o potencial inseticida de óleos essenciais extraídos dos frutos de aroeira, bem como a demanda por novas formas de controle do besourinho-dos-cereais, este trabalho tem por objetivo avaliar as propriedades inseticidas dos óleos essenciais obtidos a partir dos frutos maduros e imaturos de *S. terebinthifolius* e de seus compostos sobre *R. dominica*.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Ciências Moleculares e de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de março de 2010 a novembro de 2011.

Obtenção dos Óleos Essenciais. Os frutos foram coletados de fragmentos de Mata Atlântica, no município de Recife no estado de Pernambuco, Brasil, em Junho de 2010. As espécies foram identificadas pela Dra. Maria Rita Cabral Sales de Melo, e as exsicatas preparadas e depositadas no Herbário Sobrinho de Vasconcelos da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob o número: 49.259. O óleo essencial dos frutos maduros e imaturos (100g) foram isolados por hidrodestilação por 2h usando um aparelho tipo Clevenger modificado. Devido à diferença de densidade, os óleos foram separados da água, e secos com sulfato de sódio anidro e armazenados a 5 °C em frascos de vidro vedados, antes da análise química e de serem utilizados nos experimentos.

Criação de *Rhizopertha dominica*. A criação de besourinho-dos-cereais foi cedida pelos pesquisadores Dr Irineu Lorini e Dr. Paulo Roberto Valle da Silva Pereira, da Embrapa Trigo. Os insetos foram mantidos em grãos de *Triticum aestivum* (L.) (trigo), no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia da UFRPE sob condições de 26 ± 1 °C, U.R. $65 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Bioensaios de Fumigação. A metodologia utilizada para os experimentos de fumigação foi adaptada de Aslan *et al.* (2004). Recipientes de vidro tipo bomboniere com capacidade de 1L foram utilizados como câmaras de fumigação. Em cada câmara de fumigação foram colocados 30 insetos. Os óleos essenciais foram aplicados com o auxílio de pipetas automáticas em tiras de papel de filtro (10 x 2cm) presas à superfície interna da tampa da câmara de fumigação. As concentrações utilizadas variaram de 5 a 90 $\mu\text{L/L}$ de ar, de acordo com a atividade do óleo. No controle foi aplicado apenas diclorometano. Eugenol foi utilizado como controle positivo. Para cada concentração foram utilizadas três repetições, sendo cada repetição uma câmara de fumigação. As avaliações foram realizadas após um período de 24, 48 e 72h de exposição. Para cada período de exposição foi montado um novo bioensaio. O delineamento foi inteiramente casualizado. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit e as concentrações letais (CL_{50s}) estimadas utilizando-se o programa SAS (SAS Institute 2002). A metodologia de Robertson & Preisler (1992) foi utilizada para o cálculo das razões de toxicidade, com seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

Bioensaios de Fumigação dos Compostos Individuais e Blendas. Com o intuito de investigar o papel exercido de mono e sesquiterpenos na toxicidade apresentada para os óleos dos frutos imaturos e maduros, os bioensaios de fumigação foram repetidos com compostos individuais selecionados e suas blendas utilizando a menor concentração testada para os óleos, que promoveram mortalidade acima de 95% (45 e 50 $\mu\text{L/L}$ para frutos imaturos e maduros

respectivamente) no período de exposição de 72h. Do óleo extraído dos frutos imaturos foram selecionados os compostos β -pineno, limoneno, terpinoleno, terpineol, α -terpineol e nerolidol. Para frutos maduros, além destes foi selecionado também o α -pineno (Fig. 1). As misturas dos constituintes (blendas) selecionados a partir do óleo essencial dos frutos imaturos de *S. terebinthifolius* (β -pineno $2,2 \pm 0,2\%$; limoneno $44,1 \pm 1,3\%$; terpinoleno $0,9 \pm 0,0$; terpineol $2,5 \pm 0,2\%$; α -terpineol $1,7 \pm 0,3\%$ e nerolidol $0,3 \pm 0,0\%$, representando um total de $51,7\%$ do óleo) e dos frutos maduros (α -pineno $0,4 \pm 0,0\%$; β -pineno $1,6 \pm 0,2\%$; limoneno $31,8 \pm 1,2\%$; terpinoleno $0,1 \pm 0,0\%$; terpineol $0,2 \pm 0,0\%$; α -terpineol $0,6 \pm 0,0\%$ e nerolidol $0,3 \pm 0,1\%$, representando um total de $35,0\%$ do óleo), denominados, respectivamente, de mistura artificial do óleo dos frutos imaturos e maduros de *S. terebinthifolius* foram preparadas e submetidas aos testes de fumigação no mesmo período de exposição (72h). Os resultados destas misturas artificiais dos óleos foram comparados com a toxicidade obtida para os respectivos óleos naturais na mesma concentração os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade através do programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

Bioensaios de Repelência. Foram utilizados placas de petri de plástico de (9 cm de diâmetro por 1,5 cm de altura) forradas em seu interior com papel filtro e cobertas com tecido voil. No interior de cada recipiente foram adicionado, em dois pontos equidistantes, 2g de trigo sendo um deles impregnado com a concentração a ser testada do óleo essencial liberando-se no centro 20 insetos. As concentrações foram definidas com base nos resultados do bioensaio de fumigação. A avaliação foi realizada após 48h (adaptado de Tavares 2006). Foi quantificado o número de insetos atraídos. O Índice de Repelência (IR) foi calculado pela fórmula: $IR = 2G / (G + P)$, onde, G = % insetos no tratamento e P = % de insetos na testemunha. Os valores de IR variam entre zero e dois, sendo que IR = 1 indica repelência semelhante entre o tratamento e a testemunha (tratamento neutro), IR > 1 indica menor repelência do tratamento em relação à testemunha

(tratamento atraente) e $IR < 1$ corresponde a maior repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento repelente). O intervalo de segurança utilizado para considerar se o óleo é ou não repelente será obtido, a partir da média dos IR (índice de repelência) e o respectivo desvio padrão (DP), ou seja, 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. Este índice é uma adaptação da fórmula citada por Lin *et al.* (1990), para índice de consumo. Os experimentos foram conduzidos no delineamento inteiramente casualizado. Foram selecionadas quatro concentrações para cada óleo e para o controle positivo e realizadas 5 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de t ($P \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

Toxicidade por Fumigação. Nos bioensaios de fumigação, o besourinho-dos-cereais foi susceptível aos óleos dos frutos imaturos e maduros de *S. terebinthifolius*. A toxicidade variou de acordo com o tipo de fruto usado para obtenção do óleo essencial, a concentração e o tempo de exposição da praga. As curvas concentração/mortalidade encontram-se na Fig. 2.

A menor concentração dos óleos que promoveu mortalidade acima de 95% foi a utilizada para 72h de exposição. Ou seja, 45 $\mu\text{L/L}$ de ar com 95,96% ($\pm 1,75$) de mortalidade, 50 $\mu\text{L/L}$ de ar com 96,67% ($\pm 3,33$) de mortalidade para o óleo dos frutos imaturos e maduros, respectivamente e 95,56% ($\pm 1,92$) para o controle positivo (eugenol) (Figs. 3, 4 e 5). As médias de mortalidades obtidas para o óleo dos frutos imaturos e eugenol na menor concentração (50 $\mu\text{L/L}$ de ar) não diferiram significativamente entre si.

As curvas de respostas da relação concentração-mortalidade do besourinho-dos-cereais para óleo óleos de *Schinus* e o controle positivo foram obtidos com a finalidade de comparar suas

toxicidades relativas nos diferentes tempos de exposição. Comparando as CL_{50} estimadas dos óleos de *Schinus* para o besourinho-dos-cereais, constatou-se que a maior ação fumigante foi para o maior tempo de exposição com CL_{50} estimadas de 23,36 $\mu\text{L/L}$ de ar para o óleo dos frutos maduros e 22,21 $\mu\text{L/L}$ para o óleo dos frutos imaturos. O mesmo foi observado para o controle positivo, revelando que os produtos testados neste trabalho a ação fumigante está relacionada ao tempo de exposição à praga (Tabela 1).

De acordo com os intervalos de confiança obtidos para os valores das CL_{50} da ação fumigante dos óleos testados, a toxicidade do óleo dos frutos imaturos e maduros foi a mesma para os tempos de 24 e 48h de exposição, que diferiram significativamente da toxicidade apresentada no tempo de 72h. Apesar de esses óleos apresentarem composições químicas diferentes (Nascimento *et al.* 2012), o que poderiam promover diferentes susceptibilidades do besourinho-dos-cereais, as CL_{50} estimadas para os óleo dos frutos maduros e imaturos não diferiram significativamente entre si. Ao contrário do observado para os óleos essenciais, diferenças significativas foram obtidas para o controle positivo nos três tempos testados (Tabela 1).

Comparando as toxicidades observadas entre os óleos de *Schinus* e o controle positivo, este último foi menos eficiente do que os óleos dos frutos imaturos e maduros apenas nos teste avaliados 24h após de exposição ao inseto. Estas toxicidades se inverteram com o passar do tempo. A ação fumigante observada para o eugenol após 48h foi 1,33 e 1,40 vezes mais potente e após 72h foi 2,15 e 2,26 vezes mais potente do que a observada nos mesmos períodos para o óleo dos frutos imaturos e maduros, respectivamente.

Esses resultados sugerem que a maior eficiência observada para os óleos de *Schinus* em relação ao eugenol nos testes avaliados em 24h de exposição se deve à mistura complexa de monoterpenos e sesquiterpenos que constituem esses óleos, que podem atuar ao mesmo tempo por diferentes

mecanismos de ação o que levaria a uma resposta mais rápida comparada com o controle positivo (Isman *et al.* 2011).

Os óleos dos frutos de *S. terebinthifolius* são constituídos por substâncias bioativas, as quais uma vez identificadas e devidamente avaliadas podem ser utilizadas como composto líder em formulações para o controle do besourinho dos cereais.

Grandes partes dos estudos sobre a atividade inseticida com óleos essenciais reportam apenas a ação do óleo sem estabelecer uma relação entre toxicidade e composição química, ou a atividade é atribuída apenas à toxicidade relativa de seus constituintes investigados isoladamente, como exaustivamente é reportado na literatura (Perich *et al.* 1995, Furtado *et. al.* 2005). Porém, outros pontos, como as interações entre os constituintes e suas proporções em que são encontrados nos óleos são fatores que devem ser levados em consideração à toxicidade do óleo essencial (Isman *et al.* 2011).

Toxicidade por Fumigação dos Constituintes Individuais e suas Blendas. De acordo com a Fig. 6 para o óleo extraído dos frutos imaturos, o limoneno, componente principal desse óleo (44,1%), seguido do constituinte minoritário terpinoleno (0,9%) alcançaram o mesmo nível de toxicidade encontrado para o óleo essencial. Para os constituintes selecionados do óleo extraído dos frutos maduros, além destes monoterpenos, outros dois da série dos pinanos, α -pineno e β -pineno também apresentaram toxicidades no mesmo nível do óleo essencial. Estes resultados preliminares sugerem que a propriedade inseticida observada para os óleos dos frutos de aroeira sob *R. dominica*, pode ser atribuída às toxicidades individuais destes constituintes. Entretanto, a atividade de um óleo não é necessariamente atribuída apenas às toxicidades relativas apresentadas para os seus constituintes testados individualmente. É preciso levar em consideração também as possíveis interações entre estes componentes, bem como suas proporções na composição do óleo essencial. (Miresmailli *et al.* 2006)

Nesse sentido, bioensaios foram conduzidos, nas mesmas condições usadas para os compostos individuais com as misturas artificiais completas (MA) desses constituintes e incompletas, retirando um constituinte de cada vez da mistura completa. A quantidade usada para cada composto nas misturas foi o percentual relativo em que eles foram identificados nos óleos essenciais dos frutos imaturos e maduros de *S. terebinthifolius*. As médias de mortalidades da mistura completa e das misturas removendo um dos constituintes por vez da mistura completa para o óleo dos frutos imaturos são apresentadas na Fig 7.

Comparando as toxicidades relativas obtidas para o óleo dos frutos imaturos (Fig. 7a) com sua mistura artificial, constatou-se que essa mistura não alcançou o mesmo nível de toxicidade observado para o óleo dos frutos imaturos, mesmo sendo constituída por compostos (limoneno e terpinoleno) que apresentaram em testes isolados 100% de mortalidade do besourinho dos cereais. Esses resultados sugerem que nas proporções em que os constituintes se encontram a interação entre esses constituintes é antagonista. Provavelmente os constituintes que mais contribuem para esse tipo de interação sejam o β -pineno ou nerolidol. De fato, o nível de toxicidade observada para o óleo dos frutos imaturos foi alcançado pela preparação das blendas removendo um desses compostos da mistura completa. Por outro lado, a remoção do limoneno promoveu uma drástica redução na mortalidade. O mesmo foi observado na remoção do 1-terpineol e terpinoleno, sugerindo que o componente principal do óleo (limoneno [44,1%]), seguido dos minoritários, terpinoleno (0,9%) e 1-terpineol (2,5%) são os monoterpenos testados que mais contribuem na toxicidade da mistura artificial e conseqüentemente do óleo essencial dos frutos imaturos.

Ao contrário do observado para a atividade da mistura artificial do óleo dos frutos imaturos que foi menos ativo do que o óleo essencial, a toxicidade da mistura artificial do óleo dos frutos maduros alcançou o mesmo nível de toxicidade observada para o óleo essencial (Fig. 7b). Testes com as misturas incompletas obtidas pela remoção de alguns constituintes pouco interferiu na

toxicidade. Por exemplo, as médias de mortalidades obtidas para estas misturas sem nerolidol (88,74%), α -pineno (88,51%), e terpineol (98,81%), não diferiram entre si e da média de mortalidade obtida para a mistura completa do óleo dos frutos maduros (87,78%). Entretanto, a mortalidade caiu drasticamente com a remoção do limoneno (2,42%). Resultados relevantes também foram obtidos com as blendas removendo α -terpineol (14,53%), terpinoleno (19,33%), e β -pineno (33,81%), sendo um forte indicativo de que a atividade observada para a mistura artificial do óleo dos frutos maduros pode ser atribuída a presença desses monoterpenos.

A investigação do papel exercido pelos mono e sesquiterpenos na toxicidade da mistura artificial dos óleos dos frutos imaturos e maduros, indicou o limoneno, componente principal dos óleos dos frutos de *Schinus terebinthifolius*, como o que mais contribui com a atividade inseticida observada para a mistura artificial dos óleos investigados. Os resultados obtidos para a ação fumigante dos óleos dos frutos de *S. terebinthifolius* sobre o besourinho dos cereais corroboram a hipótese que a atividade inseticida de um óleo essencial é decorrente, além de outros fatores, da interação entre os constituintes químicos e proporção em que são encontrados no óleo essencial.

Bioensaios de Repelência. Tanto os óleos testados como o controle positivo mostraram diferentes atividades de acordo com a concentração testada (Tabela 2). O óleo dos frutos imaturos de *S.terebinthifolius* se mostrou repelente em três das quatro concentrações testadas (25, 35 e 35 $\mu\text{L}/2\text{g}$) e neutro a 15 $\mu\text{L}/2\text{g}$. Surpreendentemente, o óleo dos frutos maduros se mostrou atraente a 15 $\mu\text{L}/2\text{g}$. Foi neutro a 25 $\mu\text{L}/2\text{g}$ e repelente nas concentrações mais altas (30 e 50 $\mu\text{L}/2\text{g}$). Ambos apresentaram ação repelente mais efetiva que o controle positivo, eugenol, que se mostrou atraente nas duas menores concentrações testadas (5 e 10 $\mu\text{L}/2\text{g}$) e repelente nas duas maiores (30 e 50 $\mu\text{L}/2\text{g}$).

Essas diferentes atividades de um mesmo óleo ou composto de acordo com a concentração já foram verificadas em outros trabalhos. Tavares (2006), testando extratos não aquosos de folhas e

frutos de *Chenopodium quinoa* e *Chenopodium album* não observou efeito repelente ou atraente para adultos de *R. dominica*. Este autor testou também constituintes isolados tais como limoneno (constituente majoritário em ambos óleos testados no presente trabalho) e α pineno (composto minoritário no óleo essencial dos frutos maduros da aroeira) e ainda sim não constatou efeito repelente mesmo nas maiores concentrações o que indica que o efeito repelente comprovado no presente trabalho se deve à mistura e à ação sinérgica dos compostos dos óleos dos frutos de *S. terebinthifolius*, não a ação individual de cada composto ainda quando presente em maior quantidade na composição do óleo.

A toxicidade apresentada através dos ensaios de fumigação e a ação repelente dos óleos dos frutos de aroeira testados neste trabalho, bem como ação individual de seus compostos, demonstraram o potencial destes óleos para o desenvolvimento de um novo inseticida como alternativa aos inseticidas sintéticos para utilização no programa de manejo integrado da *R. dominica*.

Agradecimentos

A todos os alunos do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, pelo auxílio nas coletas e obtenção dos óleos essenciais. Ao CNPq pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor. À Dra Maria Rita Cabral Sales de Melo do Herbário Sobrinho de Vasconcelos da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela identificação das espécies vegetais. Aos pesquisadores Dr Irineu Lorini e Dr. Paulo Roberto Valle da Silva Pereira, da Embrapa Trigo, pela cepa de *Rhizopertha dominica* cedida.

Literatura Citada

Aslan, I., H. Ozbek, O. Çalmasur & F. Sahdn. 2004. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Ind. Crop Prod. 19:167-173.

- Benzi, V.S., S. Veronica, A.P. Murray & A.A. Ferrero. 2009.** Insecticidal and insect-repellent activities of essential oils from Verbenaceae and Anarcadiceae against *Rhyzopertha dominica*. Nat. Prod. Commun. 4: 1287-1290.
- Dethier, V.G., L.B. Browne & C.N. Smith. 1960.** The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. J. Econ. Entomol. 53: 134-136.
- Faroni, L.R.D'A., C.R.F. Oliveira, J.R. Gonçalves & M.A.G. Pimentel. 2004.** Influência da alimentação na biologia de *Rhyzopertha dominica* (Fabrícus) (Coleoptera: Bostrichidae). Rev. Bras. Armaz. 29: 13-18.
- Furtado R.F., M.G.A. Lima, M.A. Neto, J.N.S. Bezerra & M.G.V. Silva. 2005.** Atividade Larvicida de Óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). Neotrop. Entomol. 34:843-847.
- Guedes, R.N.C., B.A. Dover & S. Kambhampati. 1996.** Resistance to chlorpyrifos methyl, pirimiphos methyl, and malathion in Brazilian and U.S. populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). J. Econ. Entomol. 89: 27-32.
- Guedes, R.N.C.S. Kambhampati; B.A. Dover & K.Y. Zhu. 1997.** Biochemical mechanisms of organophosphate resistance in *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) populations from the United States and Brazil. Bull. Entomol. Res. 87: 581-586.
- Gonçalves, R.A., J.P. Santos, P.K. Chandra & R. Germani. 2000.** Controle de *Rhyzopertha dominica* pela atmosfera controlada com CO₂, em trigo. Pesqu. Agropecu. Bras. 35: 1-9.
- Hall, D.W. 1971.** Manipulacion y almacenamiento de granos alimenticios en las zonas tropicales y subtropicales. Roma, FAO, 400 p.
- Isman M.B., S. Miresmailli & C. Machial. 2011.** Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. Phytochemistry Rev. 10: 197-204.
- Lorini, I. & D.J. Galley. 1999.** Deltamethrin resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae), a pest of stored grain in Brazil. J. Stored Prod. Res. 35: 37-45.
- Miresmailli S. & M.B. Isman. 2006.** Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against twospotted spider mite (acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. J. Econ. Entomol. 99: 2015-2023.
- Nascimento A.F., C.A.G. Câmara, M.M. Moraes & C.S. Ramos. 2012.** Essential Oil Composition and Acaricidal Activity of *Schinus terebinthifolius* from Atlantic Forest of Pernambuco, Brazil against *Tetranychus urticae*. Nat. Prod. Commun. 7: 129-132.

- Pacheco, I.A., M.R. Sartori & R.W. Taylor. 1990.** Levantamento de resistência de insetos-praga de grãos armazenados à fosfina, no estado de São Paulo. Coletânea do ITAL 20: 144-154.
- Perich, M.J., C. Wells, W. Bersch & K.E. Tredway. 1995.** Isolation of the insecticidal components of *Tagetes minuta* (Compositae) against mosquito larvae and adults. J. Am. Mosq. Control Ass. 11: 307-310.
- Poy, L.A. 1991.** Ciclo de vida de *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Col.,Bostrychidae) em farinhas e grãos de diferentes cultivares de trigo. Dissertação mestrado, UFP, Curitiba 135p.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. California, CRC Press, 127p.
- Rocha Júnior, L.S. 2003.** Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.), expurgadas com fosfina durante o armazenamento. Tese de Doutorado, UEC, Campinas, 64p.
- Santos, D.S. 1995.** Viabilização de atmosfera modificada pelo CO₂ na manutenção das qualidades do milho (*Zea mays* L.) durante o armazenamento. Tese de Mestrado, UFLA, Lavras 72p.
- Santos, R.A.S., R.A. Lima, A.G. Silva, C.F. Fernandes, D.K.S. Lima, L.A.P. Sallet, C.A.D. Teixeira & V.A. Facundo. 2007.** Atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman. Porto Velho, Embrapa Rondônia. 13p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento no. 48).
- Sartori, M.R., I.A. Pacheco, M. Iaderoza & R.W.D. Taylor. 1990.** Ocorrência e especificidade de resistência ao malatim em insetos praga de grãos armazenados no Estado de São Paulo. Coletânea ITAL 20: 194-209.
- SAS Institute. 2002.** SAS user's guide: Statistics, version 9.0, 7th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Tavares, M.A.G.C. 2006.** Busca de compostos em *Chenopodium* spp. (Chenopodiaceae) com bioatividade em relação a pragas de grãos armazenados. Tese de doutorado, ESALQ, Piracicaba, 109p.

Tabela 1. Efeito fumigante dos óleos essenciais dos frutos de *Schinus terebinthifolius* e do Eugenol sobre adultos de *Rhyzopertha dominica*.

Óleo ou composto/ tempo de exposição	N	Inclinação (± EP)	CL ₅₀ (µL/L) (I.C. a 95%) ²	Gl	χ ²	RT ₅₀ ¹
<i>S. terebinthifolius</i> frutos imaturos /24h	432	5,79 (±0,43)	28,57 a (26,91 -30,38)	3	5,85	-
<i>S. terebinthifolius</i> frutos imaturos /48h	452	4,10 (±0,32)	26,72 a (24,46- 29,16)	3	3,18	1,06
<i>S. terebinthifolius</i> frutos imaturos /72h	423	6,37 (±0,54)	22,21b (21,03-23,42)	3	5,60	1,29
<i>S. terebinthifolius</i> frutos maduros /24h	455	6,63 (±0,91)	29,32 a (26,07 -33,28)	3	6,28	-
<i>S. terebinthifolius</i> frutos maduros /48h	534	7,53 (±0,54)	27,94 a (26,73- 29,11)	4	3,56	1,05
<i>S. terebinthifolius</i> frutos maduros /72h	468	4,87 (±0,36)	23,36 b (21,76-24,97)	5	6,14	1,26
Eugenol/24h	571	2,81 (±0,38)	45,82 a (41,13- 50,04)	5	6,37	-
Eugenol/48h	768	1,67 (±0,16)	19,95 b (17,44- 22,68)	7	10,8 3	2,30
Eugenol/72h	467	1,41 (±0,27)	10,33 c (3,80- 16,74)	3	6,51	4,44

n = Número de insetos; GL= Grau de liberdade; χ²=qui-quadrado; RT= Razão de toxicidade, calculada pelo método de Robertson & Preisler. Colunas seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo intervalo de confiança dentro do mesmo óleo/composto (P=0,05).

Tabela 2. Resultados dos testes de repelência para os óleos dos frutos de *Schinus terebinthifolius* e do Eugenol sobre adultos de *Rhyzopertha dominica*.

Óleo/composto	Concentração	Média IR ¹ ± DP	Classificação
<i>S.terebinthifolius</i> frutos imaturos	15 µL/2g	1,20 ± 0,20	Neutro
	25 µL/2g	0,90 ± 0,07	Repelente
	35 µL/2g	0,62 ± 0,08	Repelente
	45 µL/2g	0,13 ± 0,12	Repelente
<i>S.terebinthifolius</i> frutos imaturos	15 µL/2g	1,74 ± 0,18	Atraente
	25 µL/2g	1,12 ± 0,33	Neutro
	30 µL/2g	0,32 ± 0,22	Repelente
	50 µL/2g	0,14 ± 0,10	Repelente
Eugenol	5 µL/2g	1,64 ± 0,20	Atraente
	10 µL/2g	1,22 ± 0,08	Atraente
	30 µL/2g	0,86 ± 0,11	Repelente
	50 µL/2g	0,48 ± 0,08	Repelente

¹IR = Índice de repelência; DP= Desvio padrão.

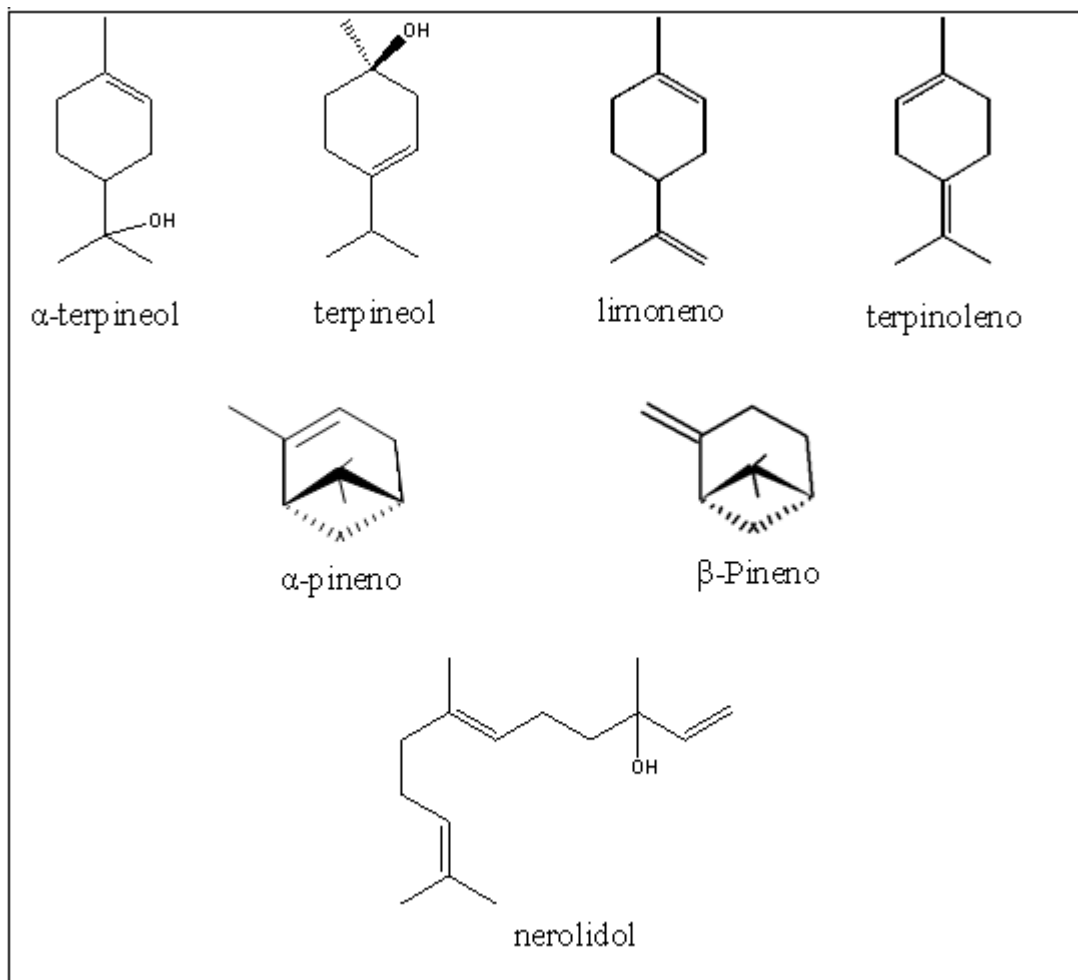


Figura 1. Compostos selecionados para bioensaios de fumigação com constituintes individuais e blends.

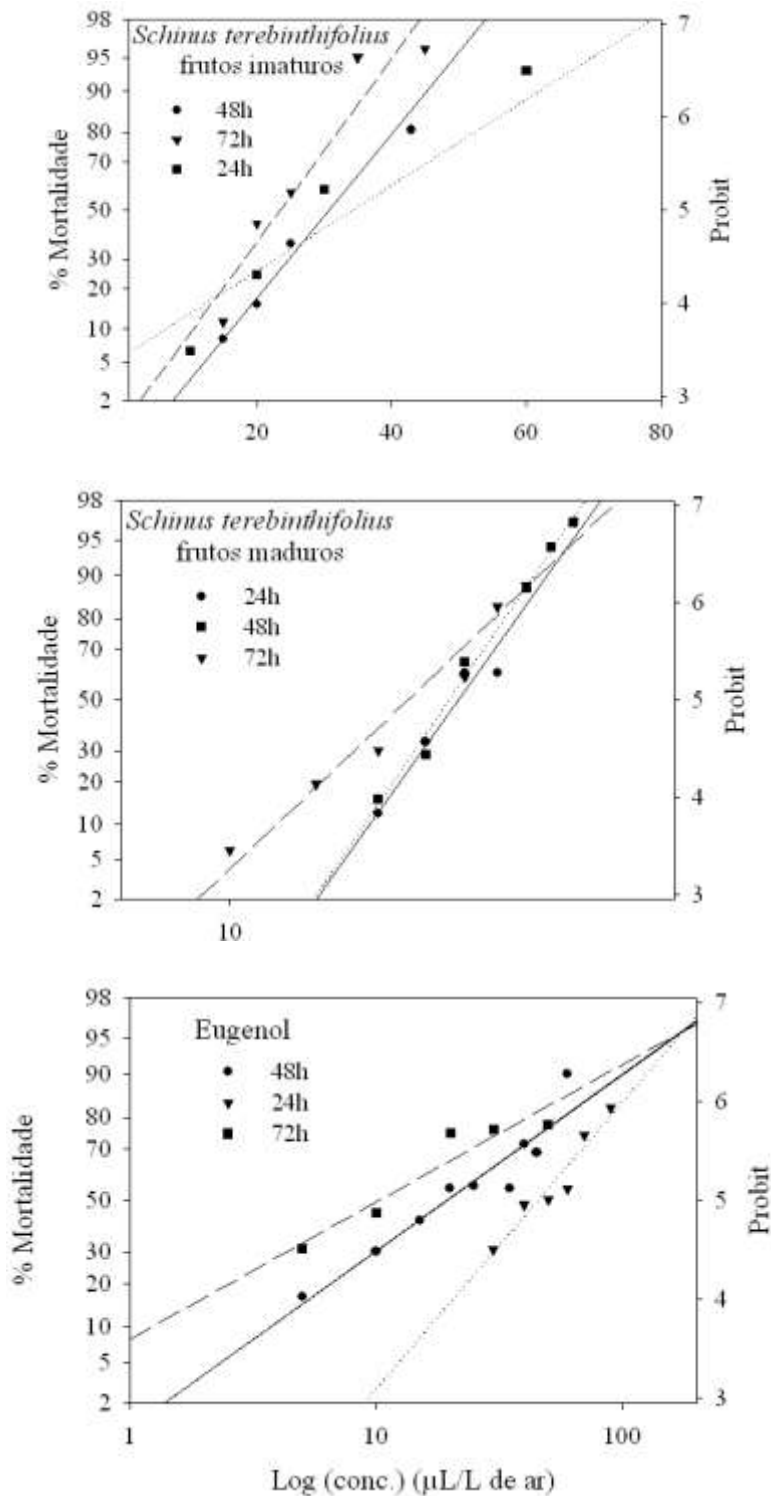


Figura 2. Curvas de concentração mortalidade via fumigação de adultos de *Ryzopertha dominica* submetidas ao óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* e ao eugenol nos tempos de exposição de 24, 48 e 72h.

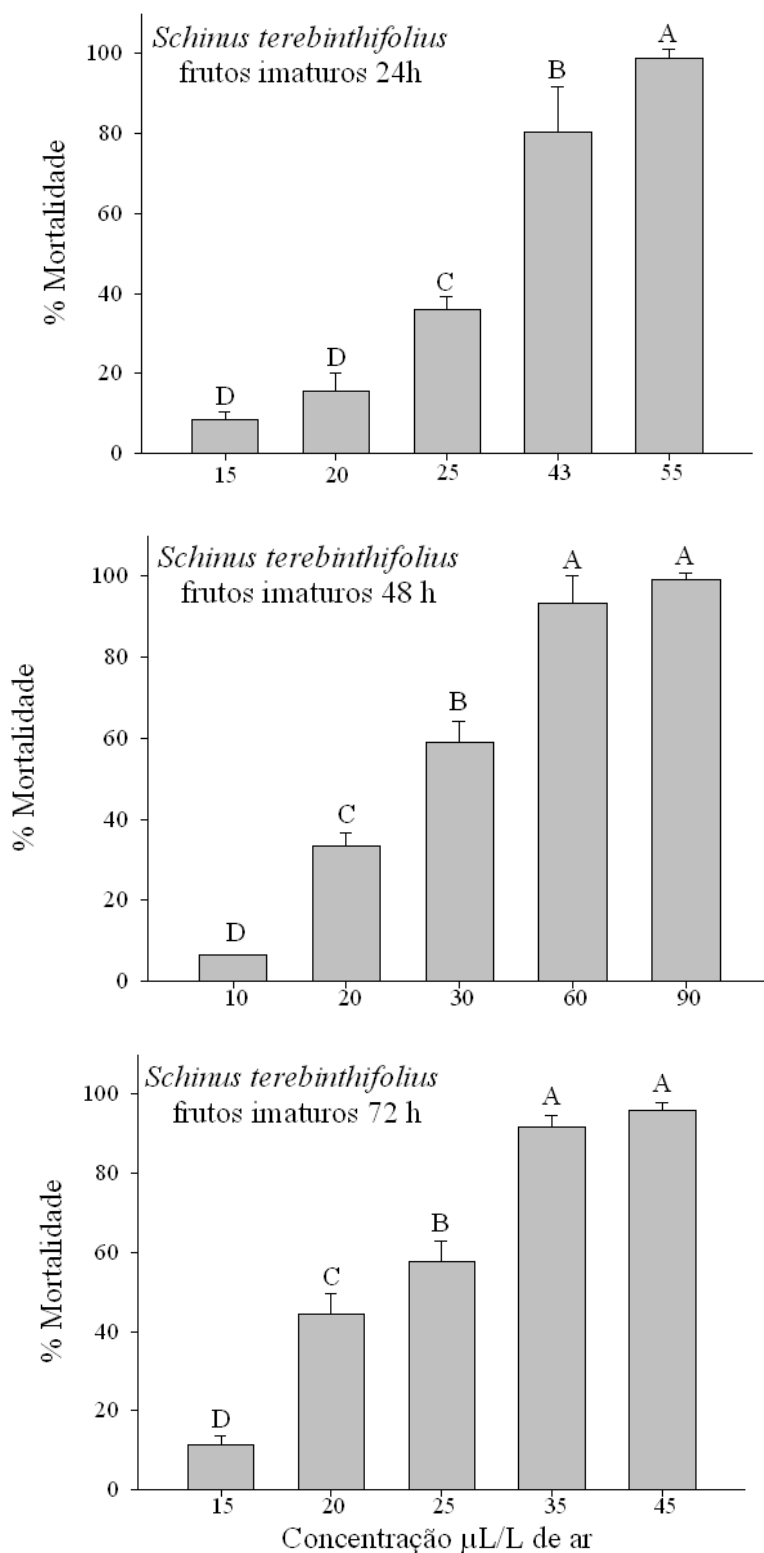


Figura 3. Atividade fumigante do óleo essencial dos frutos imaturos de aroeira em três tempos de exposição. Barras seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

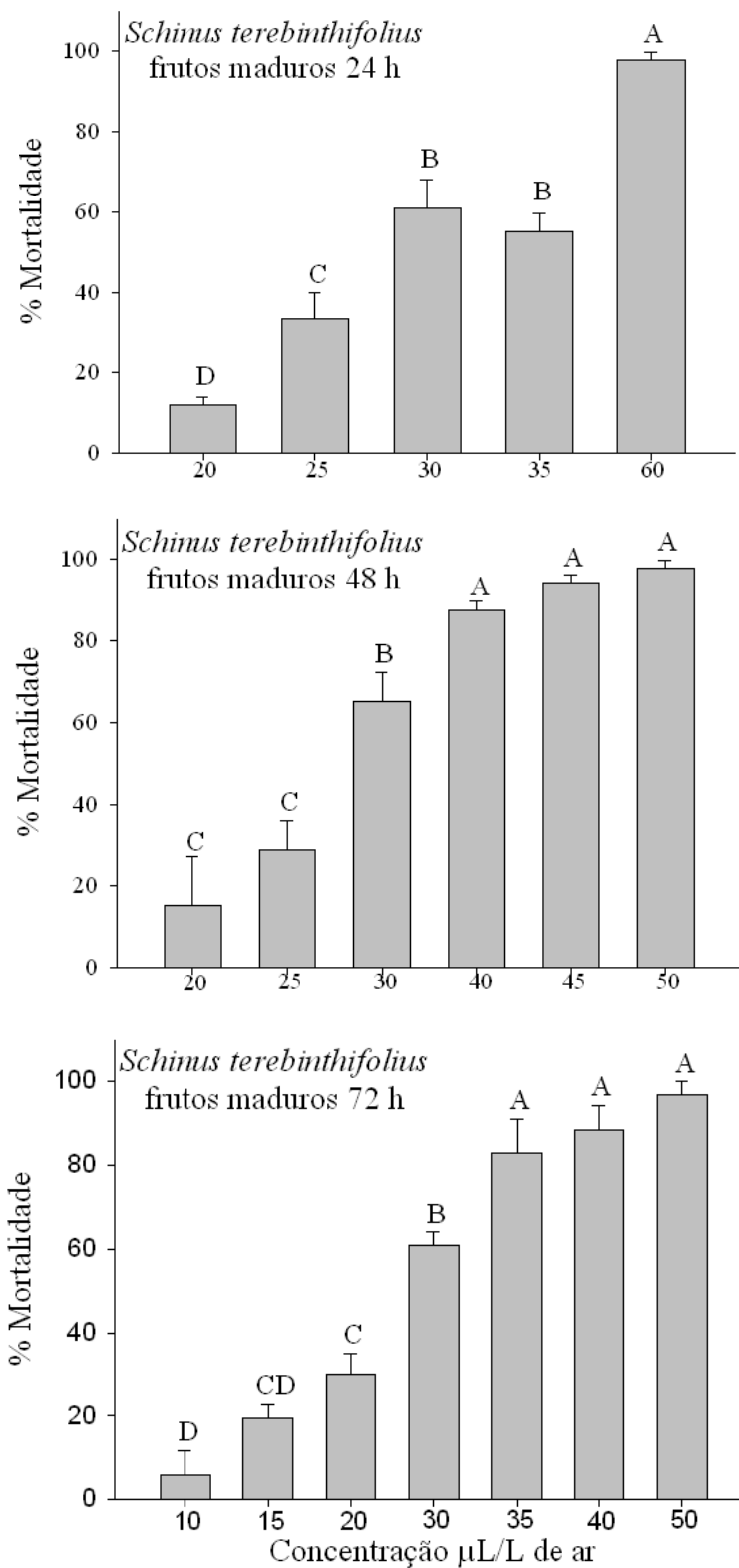


Figura 4. Atividade fumigante do óleo essencial dos frutos maduros de aroeira em três tempos de exposição. Barras seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

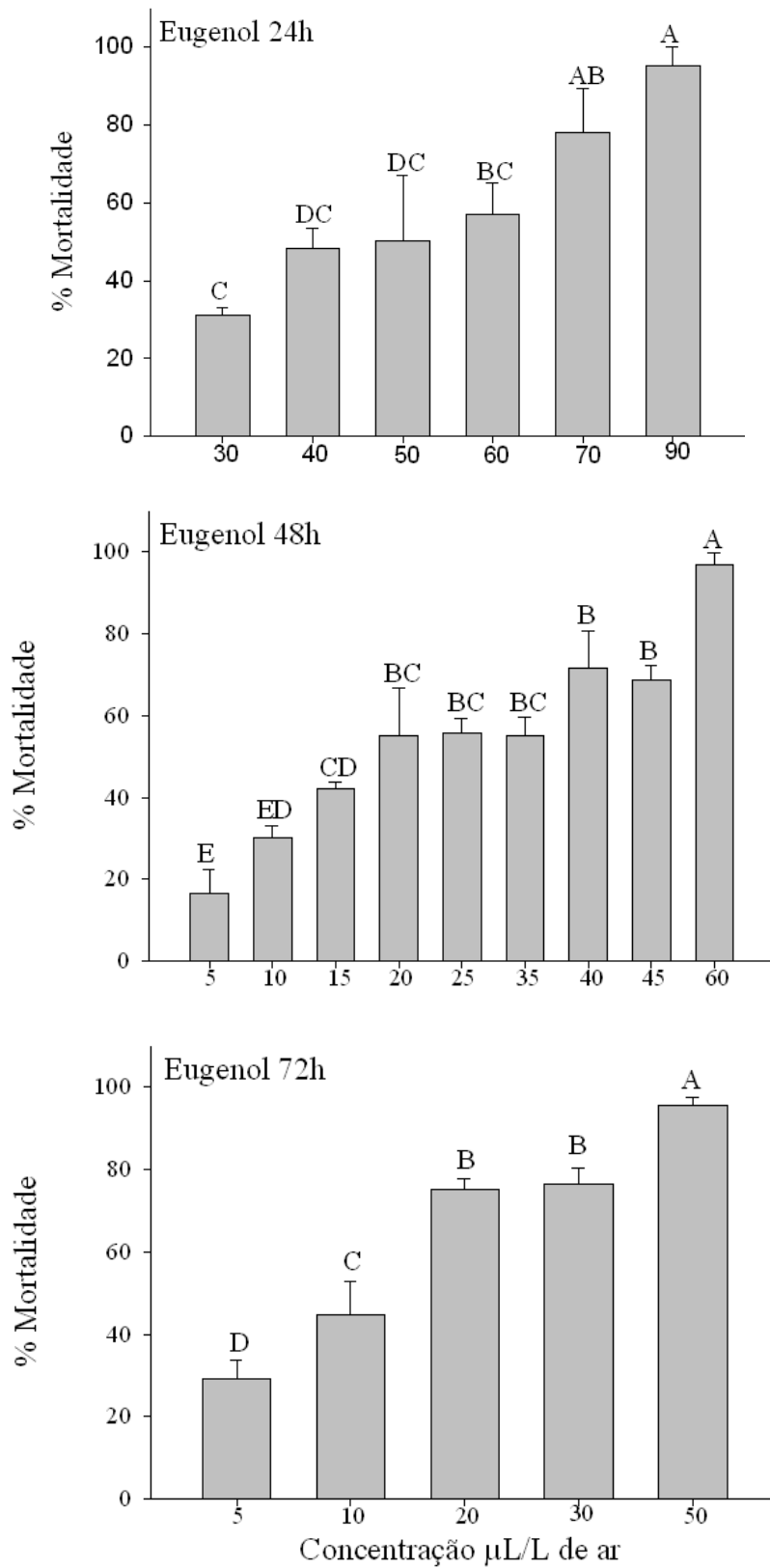


Figura 5. Atividade fumigante do composto eugenol em três tempos de exposição. Barras seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

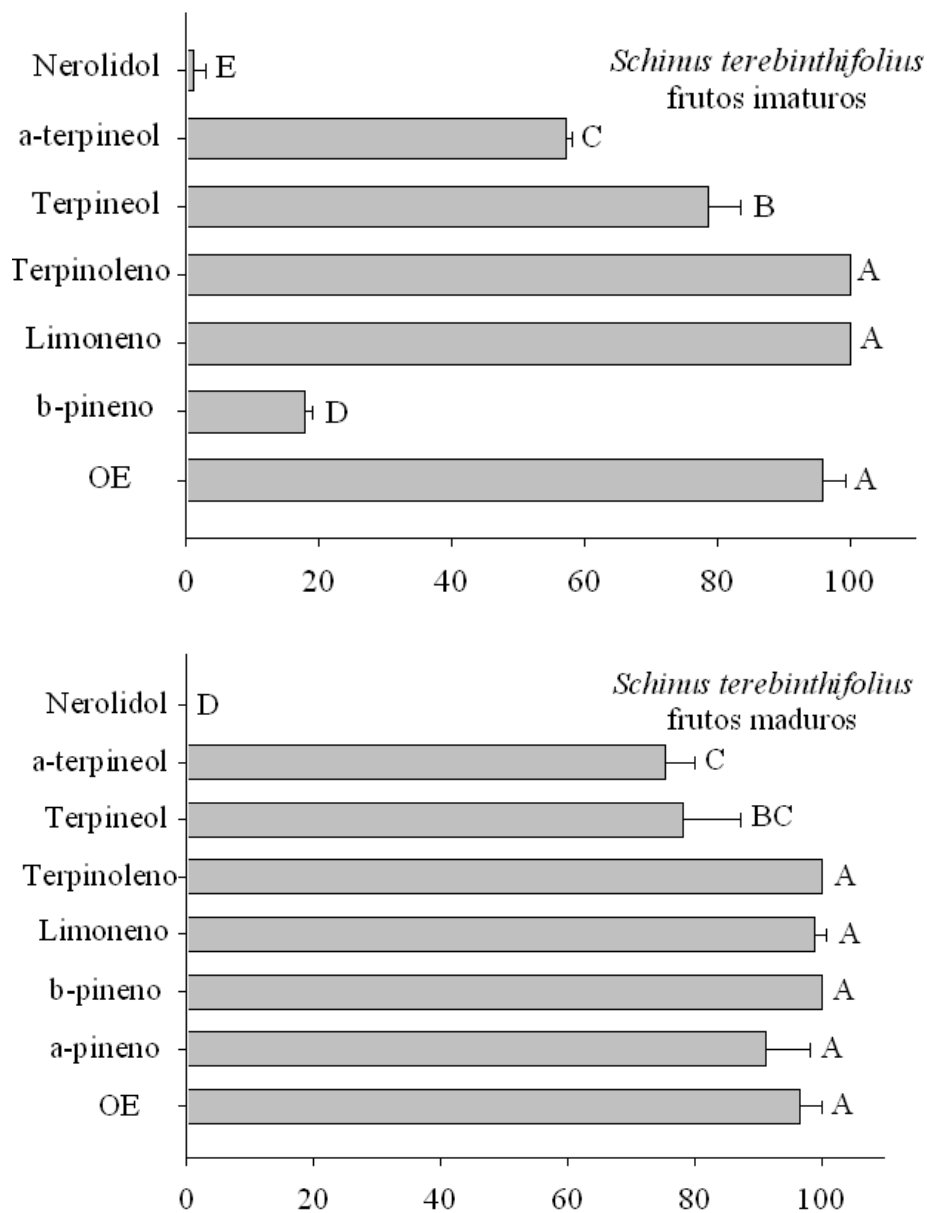


Figura 6. Mortalidade média causada pelos compostos individuais dos óleos dos frutos de *S. terebinthifolius* sobre *R. dominica* na concentração equivalente a do experimento com o óleo essencial que promoveu mortalidade $\geq 95,0\%$ ($45\mu\text{L/L}$ e $50\mu\text{L/L}$) de ar para fumigação para frutos imaturos e maduros respectivamente). Barras representam a média e o desvio padrão de 90 insetos. Barras com mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). OE = óleo essencial dos frutos. Não houve mortalidade no controle.

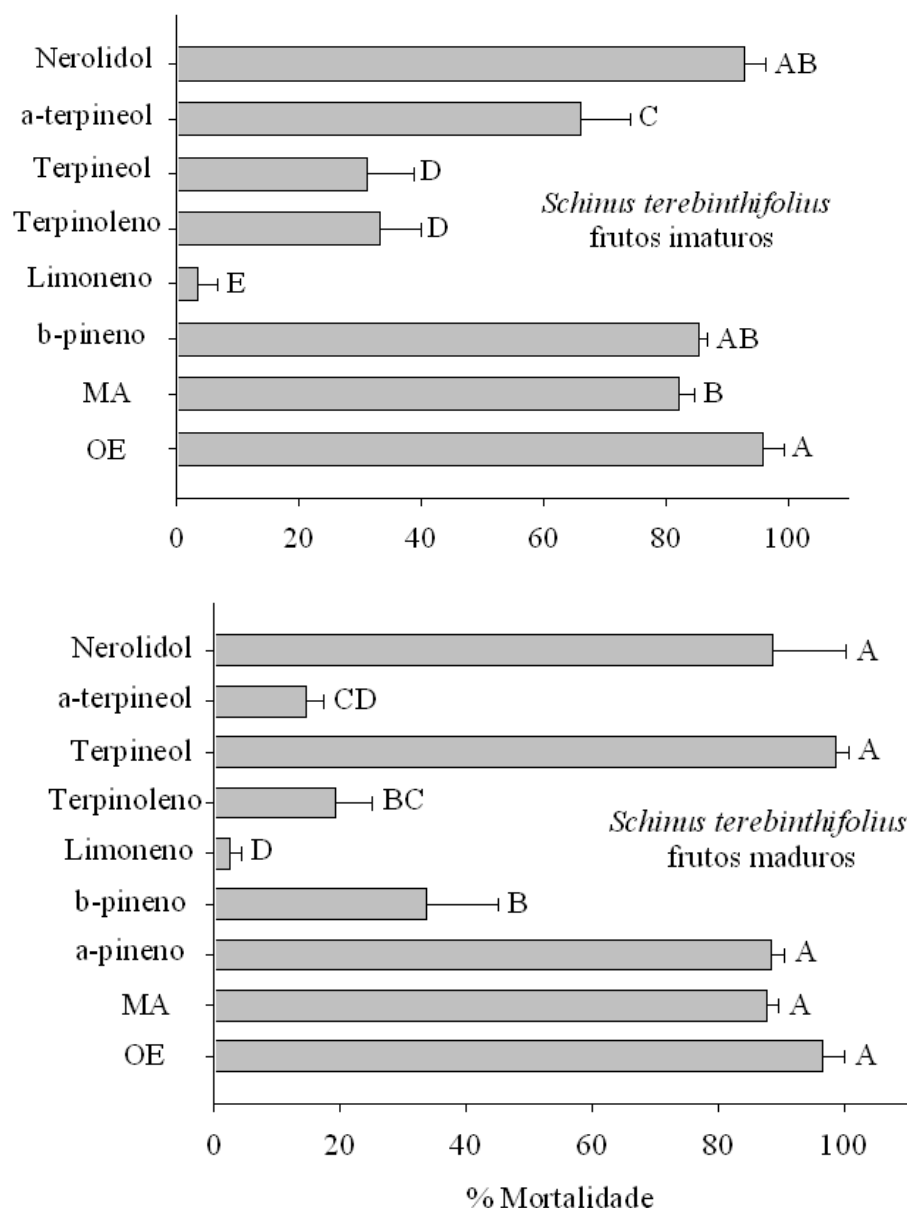


Figura 7. Mortalidade média causada pelas blendas incompletas preparadas com a remoção de um dos constituintes da mistura artificial dos frutos de *S. terebinthifolius* sobre *R. dominica* na concentração equivalente a do experimento com o óleo essencial que promoveu mortalidade $\geq 95,0\%$ (45 e 50 $\mu\text{L/L}$ de ar para fumigação para frutos imaturos e maduros respectivamente). Barras representam a média e o desvio padrão de 90 insetos. Barras com mesma letra maiúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). OE = óleo essencial dos frutos, MA = Mistura artificial dos constituintes, o nome do componente indica qual composto foi removido da mistura artificial (% identificada no óleo para frutos imaturos e maduros respectivamente) α -pineno ($0,00 \pm 0,00$ e $0,40 \pm 0,00$), β -pineno ($2,20 \pm 0,20$ e $1,60 \pm 0,20$), limoneno ($44,10 \pm 1,30$ e $31,80 \pm 1,20$), terpinoleno ($0,90 \pm 0,00$ e $0,10 \pm 0,00$), terpineol ($2,50 \pm 0,00$ e $0,20 \pm 0,00$), α -terpineol ($1,70 \pm 0,30$ e $0,60 \pm 0,00$), nerolidol ($0,3 \pm 0,00$ e $0,3 \pm 0,00$). Não houve mortalidade no controle.