

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS DAS FAMÍLIAS BURSERACEAE,
LAMIACEAE, RUTACEAE E VERBENACEAE EM *Tetranychus urticae* KOCH E *Neoseiulus*
californicus (MCGREGOR)

por

FLÁVIA DE SOUZA BORN

(Sob Orientação do Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

RESUMO

O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), tem sido controlado principalmente com acaricidas químicos sintéticos. O uso de óleos essenciais pode ser uma alternativa a esse método de controle. O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito de óleos essenciais de plantas das Famílias Burseraceae, Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae sobre *T. urticae* e o ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). As atividades repelente e tóxica dos óleos foram determinadas e comparadas ao eugenol. A toxicidade foi avaliada por fumigação e efeito residual, em laboratório e por contato direto em casa de vegetação. Os resultados demonstraram que os óleos de *Ocimum basilicum* L. e *Thymus vulgaris* L. foram mais repelentes, com CR_{50} de $3,43 \times 10^{-7}$ e 2×10^{-4} $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivamente. A toxicidade sobre ovos de *T. urticae* revelou os óleos de *T. vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* L., *Citrus reticulata* Blanco e *O. basilicum* como mais ativos. As estimativas das curvas de concentração mortalidade para fumigação sobre fêmeas adultas de *T. urticae* revelaram que eugenol foi mais tóxico, com CL_{50} de 4×10^{-3} $\mu\text{L}/\text{L}$ de ar. Os resultados dos testes de efeito residual demonstraram que os óleos de *C. reticulata*, *T. vulgaris* e *O. basilicum* apresentaram a mesma toxicidade observada para o eugenol. Os testes de toxicidade a *N. californicus* indicaram

que todos os óleos foram seletivos por fumigação e os óleos de *O. basilicum*, *R. officinalis* e *C. reticulata* foram os mais seletivos por efeito residual. A toxicidade relativa de constituintes individuais dos óleos e sua contribuição para a atividade sobre *T. urticae* também são discutidos. As maiores médias de mortalidade sobre *T. urticae* em casa de vegetação após 72 h de exposição foram de 100%, 98,85% e 96,59%, promovidas pelos óleos de *Citrus sinensis* Osbek x *Citrus reticulata* Blanco, *R. officinalis* e *Lippia gracilis* Schauer, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Acaricida natural, ácaro rajado, mentol, *Ocimum basilicum*, Phytoseiidae, timol.

ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM PLANTS OF FAMILIES BURSERACEAE,
LAMIACEAE, RUTACEAE AND VERBENACEAE IN *Tetranychus urticae* KOCH AND
Neoseiulus californicus (MCGREGOR)

by

FLÁVIA DE SOUZA BORN

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

ABSTRACT

Two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), has been controlled mainly chemical synthetic acaricides. The use of essential oils can be an alternative to this method of control. The aim of this study was to determine the effect of essential oils from plants of Families Burseraceae, Lamiaceae, Rutaceae and Verbenaceae against *T. urticae* and the predatory mite *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). Repellent and toxic activities of the oils were determined and compared to eugenol. Toxicity was evaluated by fumigation and residual effect in the laboratory and by direct contact in a greenhouse. The results showed that the oils of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus vulgaris* L. were the most repellent, with $RC_{50} = 3.43 \times 10^{-7}$ and 2×10^{-4} $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectively. The toxicity against eggs of *T. urticae* revealed *T. vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* L., *Citrus reticulata* Blanco and *O. basilicum* oils as more active. Estimates of mortality concentration curves for fumigation of adult females of *T. urticae* revealed that was more toxic eugenol, with $LC_{50} = 4 \times 10^{-3}$ $\mu\text{L}/\text{L}$ air. The test results showed that residual *C. reticulata*, *T. vulgaris* and *O. basilicum* oils present the same toxicity observed for eugenol. The toxicity tests to *N. californicus* indicated that all the oils are selective fumigation and that the *O. basilicum*, *R. officinalis* and *C. reticulata* oils were more selective by

residual effect. The relative toxicity of the individual constituents of the essential oils and their contribution to the acaricidal activity on *T. urticae* are also discussed. The highest average mortality on *T. urticae* in the greenhouse after 72 h of exposure were 100%, 98.85% and 96.59%, promoted by *Citrus sinensis* Osbek x *Citrus reticulata* Blanco, *R. officinalis* and *Lippia gracilis* Schauer oils, respectively.

KEY WORDS: Natural acaricide, two-spotted spider mite, menthol, *Ocimum basilicum*, Phytoseiidae, thymol.

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS DAS FAMÍLIAS BURSERACEAE,
LAMIACEAE, RUTACEAE E VERBENACEAE EM *Tetranychus urticae* KOCH E *Neoseiulus*
californicus (MCGREGOR)

por

FLÁVIA DE SOUZA BORN

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

RECIFE - PE

Fevereiro - 2012

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS DAS FAMÍLIAS BURSERACEAE,
LAMIACEAE, RUTACEAE E VERBENACEAE EM *Tetranychus urticae* KOCH E *Neoseiulus*
californicus (MCGREGOR)

por

FLÁVIA DE SOUZA BORN

Comitê de Orientação:

Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Manoel Guedes Corrêa Gondim Júnior – UFRPE

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira – UFRPE

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS DAS FAMÍLIAS BURSERACEAE,
LAMIACEAE, RUTACEAE E VERBENACEAE EM *Tetranychus urticae* KOCH E *Neoseiulus*
californicus (MCGREGOR)

por

FLÁVIA DE SOUZA BORN

Presidente:

Manoel Guedes Corrêa Gondim Júnior - UFRPE

Examinadores:

Iracilda Maria de Moura Lima - UFAL

Clécio Souza Ramos - UFRPE

César Auguste Badji - UFRPE

Reginaldo Barros - UFRPE

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Carlos e Rosaide, e minhas irmãs, Mônica e Cláudia, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando a seguir em busca da realização de mais um sonho e ao Mário, por estar presente com seu amor em cada momento da nossa vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade de desenvolvimento desse trabalho. À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao meu orientador, professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara, pelo exemplo de profissional, pela amizade conquistada, e por estar “presente” sempre, mesmo com a distância do último ano, me ajudando a crescer profissionalmente, me apoiando nos momentos mais difíceis.

Ao professor Reginaldo Barros, por permitir a realização desse trabalho no Laboratório de Biologia de Insetos.

Aos meus pais, Carlos e Rosaide, pelo amor e dedicação incondicional, me fazendo ter a certeza de que sempre terei um “ponto de apoio” para qualquer momento ao longo da vida.

As minhas irmãs, Mônica e Cláudia, pelo conforto nos momentos mais difíceis, e especialmente por me permitirem me sentir tão perto, apesar da distância.

Ao meu companheiro, Mário Jorge Cerqueira de Araújo, por me apoiar sempre e tornar essa caminhada mais fácil.

À Prof^a Dr^a Iracilda Maria de Moura Lima, minha primeira orientadora em entomologia, exemplo de profissional que me incentivou a iniciar minha vida profissional com os insetos.

A todo o corpo docente, por todos os ensinamentos transmitidos, especialmente ao professor José Vargas de Oliveira, pela amizade conquistada ao longo da nossa convivência.

Aos amigos do curso, Karjoene Rodrigues, Sérgio Alves, Liliane Marques, Bruno Monteiro e especialmente Aline Nascimento, Ana Paula Pereira e Nicolle Ribeiro, por estarem presentes

sempre e por tornarem esses anos mais fáceis, dividindo os piores e especialmente os melhores momentos que jamais serão esquecidos.

A Darci Martins Correia da Silva, Ariella Rayder Gomes de Souza Cahú e José Romildo Nunes Angeiras, secretários da Fitossanidade, pela ajuda em todos os momentos.

A amiga Lígia Helena de Andrade, por me receber e acolher com carinho no início dessa caminhada, me dando coragem pra enfrentar mais um desafio.

Aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Priscilla Botelho, Marcílio Moraes, Roberta Santos, Ilzenayde Neves, pela ajuda nas coletas e obtenção dos óleos essenciais e especialmente Magali Amorim pela amizade divertida.

As estagiárias do Laboratório de Biologia de Insetos, Chyntia Leão, Clarisse Araújo, Flávia Gomes e Rebeca Alves por tornarem o dia-a-dia no laboratório leve e divertido e especialmente a Sâmara Gomes, pela ajuda fundamental na reta final dessa jornada.

Ao Sr. Luiz Coelho, pela ajuda na casa de vegetação.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
LITERATURA CITADA.....	12
2 AÇÃO FUMIGANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E MISTURAS DE CONSTITUINTES SELECIONADOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Protium</i> (BURSERACEAE) CONTRA <i>Tetranychus urticae</i> (ACARI: TETRANYCHIDAE).....	20
RESUMO	21
ABSTRACT	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
AGRADECIMENTOS.....	31
LITERATURA CITADA.....	31
3 ATIVIDADE REPELENTE E TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DAS FAMÍLIAS LAMIACEAE, RUTACEAE E VERBENACEAE SOBRE <i>Tetranychus urticae</i> KOCH E <i>Neoseiulus californicus</i> (MCGREGOR) ..	37
RESUMO	38
ABSTRACT	39

INTRODUÇÃO	40
MATERIAL E MÉTODOS	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
AGRADECIMENTOS	71
LITERATURA CITADA.....	71

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior consumidor do mundo em pesticidas sintéticos (Merlino 2009). Esse fato é preocupante e tem chamado a atenção de vários setores do governo e da sociedade civil para tentar minimizar esse consumo, incentivando a sua substituição por produtos de origem natural alternativos com menor agressividade ao meio ambiente e menor toxicidade aos mamíferos.

Dentre as pragas responsáveis por esse consumo de pesticidas, que ocasionam prejuízos na agricultura, os ácaros podem ser considerados de grande importância econômica, destacando-se os da família Tetranychidae (Acari) representados por um grupo relativamente grande e estritamente fitófago (Moraes & Flechtmann 2008). Principalmente em casa de vegetação, esses ácaros provocam prejuízos mundiais decorrentes não apenas dos danos que causam, mas também em relação aos custos de controle (Miresmailli *et al.* 2006).

Um dos principais representantes da Família Tetranychidae, *Tetranychus urticae* Koch, é conhecido popularmente como ácaro rajado por causa de seu aspecto pontuado e rajado que ocorre devido à presença de massas alimentares apenas nos dois primeiros pares de cecos, apresentando duas faixas negras (Moraes & Flechtmann 2008). É considerada uma das espécies mais importantes no mundo por atacar culturas das mais diferentes Famílias, como feijão, ervilha e soja (Leguminosae), mamão (Caricaceae), pêssego e morango (Rosaceae), tomate, berinjela e pimentão (Solanaceae), algodão (Malvaceae), além de flores e folhagens ornamentais (Gallo *et al.* 2002), mamona (Euphorbiaceae) (Beltrão *et al.* 2003), e eucalipto (Myrtaceae) (Flechtmann 1983).

A importância econômica de *T. urticae* está relacionada ao ciclo biológico curto e principalmente ao seu hábito alimentar, no qual o ácaro insere os estiletes nos tecidos das plantas e injeta o produto das glândulas salivares nas células da planta hospedeira. Após a retração dos estiletes, os fluidos celulares que vêm à superfície da folha são sugados pela ação da bomba faríngea (Moraes & Flechtmann 2008).

O desenvolvimento de *T. urticae*, de ovo a adulto, em feijão, é de 10,3 dias. As fêmeas apresentam um período médio de pré-oviposição de 1,2 dias e de oviposição em média 17,3 dias, podendo chegar a ovipositar 116,3 ovos durante o período reprodutivo (Silva *et al.* 1985).

No Brasil, entre os ácaros pertencentes à Família Tetranychidae, o ácaro rajado apresenta grande número de hospedeiros, causando sérios danos a muitos deles (Moraes & Flechtmann 2008). No município de Petrolina, Estado de Pernambuco, sua primeira ocorrência foi registrada em 1985, após o início dos cultivos irrigados naquela região (Moraes 2001).

Devido a sua importância para a agricultura, o manejo integrado do ácaro rajado é fundamental. A principal forma de controle tem sido pelo uso de acaricidas sintéticos, como por exemplo, dicofol, abamectina, clorfenapir, entre outros. Outra forma de controle, normalmente associada ao uso de acaricidas sintéticos, é o controle biológico.

No Brasil, o controle biológico dessa praga é realizado por ácaros predadores da família Phytoseiidae, como exemplo, *Neoseiulus californicus* (McGregor) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks), os quais são comercializados pela empresa Brasileira “PROMIP” e utilizados em culturas como morango, crisântemo, gerbera, maçã e pêssigo (Collier *et al.* 2001, Sato *et al.* 2007b). No entanto, o controle com acaricidas químicos sintéticos muitas vezes é a única estratégia utilizada pelos produtores (Peixoto *et al.* 2008). Atualmente o uso de pesticidas sintéticos no Brasil ainda é bastante alto. Mais de 2,3 bilhões de reais foram gastos em 2004, sendo 26,9% desse total gasto apenas com inseticidas (Borges *et al.* 2004).

A utilização de forma indiscriminada de produtos químicos sintéticos, embora eficiente para o controle de ácaros, possibilita a ocorrência de efeitos adversos, podendo resultar em impactos indesejáveis ao meio ambiente, contaminar as culturas com resíduos tóxicos, além da possibilidade do surgimento de populações resistentes (Gonçalves *et al.* 2001).

Relatos de populações de *T. urticae* resistentes a mais de 90 acaricidas têm sido registrados em mais de 85 países, incluindo o Brasil (DARP 2012). A resistência de ácaros a acaricidas, segundo Moraes & Flechtmann (2008), tem se tornado um sério problema. Em videira, o ácaro rajado se apresentou resistente ao dimetoato (Souza Filho *et al.* 1994), em pessegueiro, a dimetoato, mevinfós, naled e cihexatin (Sato *et al.* 2000), em morangueiro, a fenpyroximate (Sato *et al.* 2004) e em ornamentais, como crisântemo, a clorfenapir (Sato *et al.* 2007a).

O desenvolvimento de resistência a acaricidas tem dificultado o controle do ácaro. Além disso, a baixa seletividade de alguns acaricidas sintéticos agrava ainda mais esse problema uma vez que acarreta a destruição de inúmeros organismos benéficos para as culturas. Dessa forma, o fato de que os acaricidas sintéticos podem apresentar alta toxicidade aos mamíferos e ser persistentes no meio ambiente, o setor agrícola e os órgãos de legislação, proteção ambiental e aqueles ligados às atividades de setores produtivos e comerciais do Brasil, vêm incentivando e estimulando a substituição gradual desses acaricidas por produtos naturais alternativos que possibilitem menor toxicidade aos mamíferos e baixa persistência no ambiente.

Dentre os produtos naturais, os acaricidas de origem botânica merecem destaque. O uso de diferentes partes do vegetal na forma de pós, extratos, óleos fixos e óleos essenciais já foram reportados por suas propriedades biológicas para diversas espécies de artrópodes (Isman 2000, Flamini 2006, Isman 2006). Características como possível seletividade, assim como a alta eficiência já foram registradas para diferentes tipos de produtos naturais, inclusive os óleos essenciais. É importante ressaltar que a resistência desenvolvida por insetos aos óleos essenciais é

bastante reduzida (Alkofahi *et al.* 1989), devido a complexa mistura de diferentes constituintes químicos presentes em um óleo essencial, que, provavelmente atuam por diferentes modos de ação.

Os óleos essenciais são obtidos a partir de plantas aromáticas que, ao longo da evolução, desenvolveram defesas químicas contra herbívoros (Walling 2000). Esses óleos podem ser obtidos por hidrodestilação, destilação a vapor, destilação seca ou por mecanismos de prensagem mecânica das plantas. Dependendo das espécies consideradas, os óleos essenciais podem ser produzidos e armazenados em diferentes órgãos das plantas, como flores, folhas, caules, raízes, rizomas, frutos e sementes (Regnault-Roger *et al.* 2012).

Óleos essenciais são constituídos por misturas complexas de compostos orgânicos voláteis produzidos como metabólitos secundários nas plantas, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides, ésteres e outras substâncias de baixo peso molecular. Esses compostos são usualmente responsáveis pelos odores e/ou sabores característicos das plantas das quais são obtidos (Rai & Carpinella 2006).

A busca por propriedades acaricidas em espécies vegetais tem crescido bastante nos últimos anos, tornando-se uma forma promissora na descoberta de novas espécies como agentes no controle de pragas como o ácaro rajado.

Inseticidas e acaricidas tendo como ingredientes ativos óleos essenciais de plantas já vem sendo comercializados pela empresa Norte Americana “EcoSMART Technologies”. Esses produtos são obtidos de plantas como canela - *Cinnamomum zeylanicum* L. (Lauraceae) -, citronela - *Cymbopogon nardus* (L.) (Poaceae) -, cravo da índia - *Syzygium aromaticum* (L.) (Myrtaceae) -, além das espécies pertencentes à família Lamiaceae, como alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), hortelã pimenta (*Mentha x piperita* L.), e tomilho (*Thymus vulgaris* L.) (Isman *et al.* 2010).

Entre as principais características dos óleos essenciais, uma das mais importantes é sua volatilidade (Craveiro & Queiroz 1993), que, devido a sua possível ação fumigante podem ser usados para o controle de pragas em casa de vegetação (Aslan *et al.* 2004) ou como alternativa aos acaricidas convencionais, sendo usados como ingredientes ativos na preparação de novos produtos formulados. Dessa forma, esses produtos podem ser usados na agricultura orgânica, sendo uma nova opção para o controle de pragas para esses agricultores.

Poucos estudos registram a eficácia de óleos essenciais de plantas nas culturas em condições de campo, embora toxicidade e efeitos subletais desses óleos sobre pragas venham sendo obtidos satisfatoriamente em testes de laboratório. Segundo Isman *et al.* (2010) recentes pesquisas com produtos baseados em óleos essenciais realizadas em campo para o controle de pragas sugerem que produtos desse tipo podem ser tão eficientes quanto os produtos convencionais. O mais importante é que eles podem ser usados sozinhos ou em combinação com outros produtos, tanto sintéticos como microbianos. No entanto, é necessário estabelecer-se um novo paradigma e direcionar-se as pesquisas com óleos essenciais no país visando a criação de novos produtos, como formulações de acaricidas tendo como ingredientes ativos óleos essenciais.

O Brasil é um dos países com a maior diversidade vegetal do mundo, com mais de 55.000 espécies catalogadas, de um total estimado de 350.000 a 550.000 (Simões *et al.* 2002). Essa diversidade representa um importante acervo para o desenvolvimento sócio-econômico do país, como fontes de matéria-prima para indústrias de diversos fins, como as de perfumaria, alimentos e farmacêutica (Craveiro & Queiroz 1993).

Diante do exposto, foram selecionadas para o estudo da atividade de seus óleos essenciais sobre *T. urticae* onze espécies pertencentes a quatro famílias botânicas. A Família Burseraceae é representada pelas espécies *Protium giganteum* Engl. e *Protium aracouchine* (Aubl.) March. (conhecidas popularmente como almécega), pertencentes à flora nativa do Estado de Pernambuco

e que ainda não foram estudadas quanto ao seu potencial acaricida. Três espécies exóticas cultivadas no Brasil, *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), *Ocimum basilicum* L. (manjeriço) e *Thymus vulgaris* L. (tomilho), pertencentes à Família Lamiaceae. Quatro espécies de *Citrus*, *Citrus aurantium* L. (lima-da-pérsia), *Citrus reticulata* Blanco (tangerina cravo), *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (laranja mimo) e *Citrus sinensis* Osbeck x *reticulata* Blanco (tangerina murcot) (Família Rutaceae) e duas espécies de Verbenaceae, *Lippia alba* (Mill.) (erva-cidreira) e *Lippia gracilis* Schauer (alecrim da chapada).

A literatura reporta poucos relatos da atividade acaricida de óleos essenciais pertencentes às espécies selecionadas. Um levantamento bibliográfico realizado no banco de dados “SciFinder” (“Chemical Abstract”, versão “on line”) sobre a ação acaricida e/ou inseticida de óleos essenciais das espécies de interesse desse trabalho de tese revelou que os óleos essenciais das espécies pertencentes à família Lamiaceae foram os mais investigados quanto ao seu potencial inseticida.

Entre os insetos mais estudados encontram-se as pragas de produtos armazenados, com espécies pertencentes aos gêneros *Tribolium*, *Sitophilus*, *Callosobruchus*, *Rhyzoperta*, *Acanthoscelides*, *Oryzaephilus* e *Cryptolestes* (Tunc *et al.* 2000, Lamiri *et al.* 2001, Lee *et al.* 2001, Ngamo *et al.* 2001, Kostyukovsky *et al.* 2002, Pascual-Villalobos & Ballesta-Acosta 2003, Papachristos *et al.* 2004, Regnault-Roger *et al.* 2004, Rozman *et al.* 2006, Rozman *et al.* 2007, Bittner *et al.* 2008, Lopez *et al.* 2008, Odeyemi *et al.* 2008, Nerio *et al.* 2009, Sener *et al.* 2009, Caballero-Gallardo *et al.* 2011, Mikhael 2011).

Além de pragas de produtos armazenados, outras espécies de importância agrícola como mosca-branca, pulgão, tripses, mosca-minadora, mosca-das-frutas, percevejos e diferentes espécies de lepidoptera também foram estudadas (Kostyukovsky *et al.* 2002, Koschier & Sedy 2003, Pavela 2005, Mesbah *et al.* 2006, Pavela 2006, Chang *et al.* 2009, Sertkaya *et al.* 2010, Gonzales *et al.* 2011). Insetos de importância médica, como piolho humano e mosquitos principalmente dos

gêneros *Aedes*, *Culex* e *Anopheles* (Diptera: Culicidae) (Yang *et al.* 2004, Freitas *et al.* 2010, Govindarajan 2011), e de importância veterinária, como mosca-dos-estábulo (*Stomoxys calcitrans* (L.) e mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans* (L.)), entre outras, assim como pragas urbanas como mosca doméstica (*Musca domestica* L.) e barata (*Blattella germanica* L.) (Khater *et al.* 2009, Tunaz *et al.* 2009) também foram citadas na literatura como fonte de estudos da ação de óleos essenciais de espécies pertencentes à Família Lamiaceae.

A ação acaricida dos óleos essenciais de alecrim, manjerição e tomilho (Lamiaceae) vem sendo pouco pesquisada. Miresmailli *et al.* (2006) estudaram o efeito do óleo essencial de alecrim sobre *T. urticae* e verificaram que o contato residual do óleo essencial comercial sobre fêmeas adultas criadas em dois hospedeiros, feijão e tomate, apresentou toxicidade sobre *T. urticae*. Nenhuma diferença significativa foi observada entre as CL₅₀ obtidas (10,0 e 13,0 mL/L, para fêmeas criadas em feijão e tomate, respectivamente). No entanto, a mortalidade total dos ácaros (100%) ocorreu em 20,0 e 40,0 mL/L para fêmeas criadas em feijão e tomate, respectivamente. Além disso, os autores avaliaram a bioatividade de óleos sintéticos de alecrim, que foram preparados com base na combinação dos dez principais constituintes do óleo natural. Entre os resultados obtidos, o mais interessante foi que as misturas completas promoveram a mesma mortalidade daquela causada pelo óleo natural. Contudo, as misturas desses compostos sem a presença de 1,8-cineole ou α -Pinoeno reduziram significativamente a mortalidade promovida pela mistura, indicando que esses compostos apresentam uma importante contribuição para a toxicidade do óleo essencial.

Em adição à toxicidade dos óleos essenciais por meio de fumigação, contato ou ingestão, seus constituintes químicos também podem ter importantes efeitos sobre o comportamento de diversas pragas, principalmente como deterrentes e repelentes (Isman *et al.* 2010). Segundo esses autores produtos contendo óleos essenciais como princípios ativos podem ser úteis para a proteção

de culturas contra pragas. Por exemplo, em testes de dupla chance de escolha em plantas de tomate, adultos de *T. urticae* foram fortemente repelidos por discos de folhas tratados com 1% de óleo essencial de alecrim por até 48 h (Miresmailli *et al.* 2006).

O óleo essencial de manjeriço, segundo Refaat *et al.* (2002), promoveu ação repelente e tóxica, além de reduzir o número total de ovos postos pelas fêmeas de *T. urticae* em todas as concentrações avaliadas. Aslan *et al.* (2004) verificaram o efeito fumigante dos óleos essenciais de folhas, flores e ramos de manjeriço e tomilho sobre ninfas e adultos de *T. urticae* e registraram a toxicidade desses óleos em quatro concentrações e três diferentes períodos de tempo (24, 48 e 96 h). A menor concentração que causou mortalidade foi 0,4 µL/L de ar. Os autores observaram ainda uma interação significativa entre a concentração e o tempo de exposição dos ácaros aos óleos essenciais.

O levantamento bibliográfico sobre atividade inseticida e/ou acaricida para os óleos essenciais das quatro espécies de *Citrus* (Rutaceae) revelou que os óleos de lima-da-pérsia, laranja mimo e tangerina cravo foram estudados sobre espécies de importância agrícola como *Bemisia tabaci* biótipo B (Gennadius) e *Trialeurodes vaporariorum* (West.) (mosca-branca) (Choi *et al.* 2003, Ribeiro *et al.* 2010), pragas de produtos armazenados como espécies pertencentes aos gêneros *Sitophilus*, *Tribolium*, *Rhizoperta* e *Oryzaephilus* (Hou *et al.* 2002, Kostyukovsky *et al.* 2002, Mohamed & Abdelgaleil 2008), diferentes espécies de Lepidoptera (Hou *et al.* 2002, Sim *et al.* 2006) e cupins do gênero *Odontotermes* (Singh *et al.* 2001). Além disso, os óleos também foram pesquisados contra mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Culex* (Trongtokit *et al.* 2005, Eleni *et al.* 2009), mosca doméstica (*Musca domestica* L.) e piolho humano (*Pediculus humanus capitis* De Geer) (Yang *et al.* 2004, Palacios *et al.* 2009).

As espécies de *Citrus* que foram levantadas quanto a ação acaricida sobre *T. urticae* foram as laranjas lima-da-pérsia e mimo. Apenas Araújo *et al.* (2010) registraram a toxicidade fumigante

e a atividade repelente dos óleos essenciais das cascas dessas duas espécies de *Citrus* sobre fêmeas adultas do ácaro rajado. Esse estudo foi desenvolvido pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Ciências Moleculares da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A melhor ação repelente foi observada para o óleo de *C. sinensis* var. mimo a 2,0%, seguido de *C. aurantium* (repelente a 2,5%) enquanto o óleo de *C. sinensis* var. pêra não apresentou atividade repelente a uma concentração de 5,0%. Embora a ação repelente não tenha sido observada para todos os óleos, a toxicidade dos óleos das duas espécies foi registrada. O óleo de lima-da-pérsia foi o mais tóxico, seguido de laranja mimo (1,63 e 2,22 $\mu\text{L/L}$ de ar).

Para as duas espécies da família Verbenaceae, nenhum estudo foi obtido visando a atividade acaricida dos seus óleos essenciais. Apenas pragas de produtos armazenados como espécies de *Callosobruchus*, *Tribolium* e *Sitophilus* foram pesquisadas quanto ao controle com os óleos essenciais de *Lippia* (Verma *et al.* 2001, Pereira *et al.* 2008, Nerio *et al.* 2009), além de mosquitos da espécie *Aedes aegypti* L. (Santiago *et al.* 2006, Silva *et al.* 2008).

Entre todas as espécies botânicas selecionadas para o estudo acaricida, os óleos de tangerina murcot, assim como as duas espécies de almécega (*Protium*) não apresentam nenhum tipo de registro de atividades sobre insetos ou ácaros.

A literatura reporta ainda a atividade dos óleos essenciais selecionados no presente estudo sobre diferentes espécies de ácaros. Além de *T. urticae*, ácaros do gênero *Dermatophagoides* também foram estudados quanto à ação fumigante e de contato dos óleos essenciais de tomilho e tangerina cravo. Fumigação do óleo de tomilho foi testada contra duas espécies de *Dermatophagoides*, *D. farinae* Hughes e *D. pteronyssinus* Trouessart (Lee *et al.* 2010a). O óleo essencial apresentou diferente toxicidade sobre as duas espécies de ácaros, sendo mais tóxico contra *D. farinae*, com uma CL_{50} de 3,11 $\mu\text{g/cm}^2$, enquanto para *D. pteronyssinus* a CL_{50} obtida

foi de $3,72 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Outros autores estudaram a ação de contato do óleo de tomilho sobre *D. pteronyssinus* e também encontraram toxicidade, no entanto o efeito de contato revelou uma CL_{50} de $488,65 \times 10^{-6}$ e $269,59 \times 10^{-6}$ por 0,5 g de pó após 24 e 48 h de exposição, respectivamente (Saad *et al.* 2006).

Trabalhos sobre a ação do óleo de tomilho sobre *Dermanyssus gallinae* (De Geer) também foram levantados. George *et al.* (2010) pulverizaram o óleo essencial semanalmente sobre galinhas confinadas durante um período de oito semanas. O óleo foi utilizado em uma concentração correspondente a cinco vezes a CL_{90} obtida previamente em laboratório e os resultados sugerem que o óleo de tomilho possui potencial para o controle de *D. gallinae*. Esse mesmo ácaro foi utilizado para avaliar as toxicidades residual e fumigante do óleo essencial de tomilho. Os dois tipos de testes foram realizados em câmaras abertas e fechadas e os resultados obtidos pelos autores indicaram que a ação do óleo foi significativamente maior em câmaras fechadas, em todos os experimentos, revelando que a toxicidade observada ocorre principalmente por meio dos vapores do óleo (George *et al.* 2009).

Além de estudos com os óleos essenciais naturais, o efeito de compostos isolados do óleo de tomilho foi verificado sobre o ácaro de grãos armazenados, *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank). Todos os compostos testados apresentaram toxicidade de contato residual sobre o ácaro, no entanto, carvacrol foi o mais tóxico, seguido de timol (CL_{50} de 4,5 e $11,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente) (Jeong *et al.* 2008).

A literatura também reporta os efeitos dos óleos essenciais de alecrim e manjerição sobre larvas do carrapato bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Segundo Martinez-Velazquez *et al.* (2011a), os experimentos de contato residual com óleo de alecrim mostraram que a mortalidade das larvas foi de 100% a uma concentração de 20% do óleo essencial. Por outro lado,

Martinez-Velazquez *et al.* (2011b) registraram 100% de mortalidade dessas larvas quando submetidas a apenas 1,25% do óleo essencial de manjeriço através da mesma metodologia.

Com base no exposto sobre o uso de óleos essenciais como método alternativo aos acaricidas convencionais, o Brasil apresenta potencial para minimizar sensivelmente o uso de pesticidas sintéticos através da preparação de produtos tendo óleos essenciais como princípio ativo.

Os principais pontos explorados no presente estudo referentes ao uso de óleos essenciais visando o controle do ácaro rajado podem ser divididos em quatro partes. A primeira descrevendo a ação repelente e a toxicidade dos óleos essenciais através de bioensaios em fase laboratorial por meio de fumigação e efeito residual em adultos e ovos de *T. urticae* e seu predador natural, *N. californicus*. A segunda parte, refere-se a determinação das toxicidades relativas por fumigação e efeito residual de quinze constituintes químicos selecionados a partir dos óleos essenciais das espécies *Protium aracouchine* (Aubl.) Marchand e *P. giganteum* Engl. (Burseraceae) *Citrus aurantium* L. (lima-da-pérsia), *Citrus sinensis* Osbeck x *Citrus reticulata* Blanco (tangerina murcot) (Rutaceae), *Thymus vulgaris* L. (tomilho) (Lamiaceae) e *Lippia gracilis* Schauer (alecrim da chapada) (Verbenaceae) previamente.

A terceira parte refere-se a investigação na contribuição dos constituintes observada para as toxicidades dos óleos essenciais por meio da preparação de misturas artificiais completas e incompletas destes compostos na mesma proporção em que são encontrados nos óleos de *P. aracouchine*, *P. giganteum*, alecrim da chapada, tomilho, tangerina murcot e lima-da-pérsia. O quarto e último ponto explorado é a realização dos testes em casa de vegetação com os óleos das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae para comprovar a eficácia desses óleos no manejo integrado de *T. urticae*. Desta forma, os objetivos deste trabalho de tese foram:

1 - Descrever a susceptibilidade de fêmeas adultas de *T. urticae* por fumigação com óleos das espécies *Protium giganteum* e *Protium aracouchine* (Burseraceae) e dos constituintes Limoneno, Linalol, α -Terpineol, α -Humuleno e β -Cariofileno.

2 - Determinar a ação repelente dos óleos essenciais das espécies selecionadas das Famílias Lamiaceae (*Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris* e *Rosmarinus officinalis*), Rutaceae (*Citrus sinensis*, *Citrus aurantium*, *Citrus reticulata* e *Citrus sinensis x reticulata*) e Verbenaceae (*Lippia alba* e *Lippia gracilis*) sobre o ácaro rajado.

3 - Determinar a susceptibilidade das formas adulta e de ovo do ácaro rajado e adulta de seu predador natural (*N. californicus*) por fumigação e contato residual dos óleos essenciais das espécies das Famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae descritas no item 2.

4 - Determinar a toxicidade individual das misturas completas e incompletas de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides encontrados nos óleos essenciais das famílias descritas no item 2 e investigar o papel exercido por esses componentes químicos à toxicidade observada para os óleos essenciais.

5 - Verificar as toxicidades por contato em casa de vegetação de óleos essenciais das espécies descritas no item 2 sobre o ácaro rajado, com o intuito de validar a toxicidade observada em laboratório.

Literatura Citada

- Alkofahi, A., J.K. Rupprecht, J.E. Anderson, J.L. McLaughlin, K.L. Mikolajczak, & B.A. Scott. 1989.** Search for new pesticides from higher plants, p. 25-43. In J.T. Arnason, B.J.R. Philogene & P. Morand (eds.), *Insecticides of plant origin*. Washington, DC, Am. Chem. Soc., 224p.
- Araújo, C.P.Jr., C.A.G. Câmara, I.A. Neves, N.C. Ribeiro, C.A. Gomes, M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three *Citrus* species cultivated in NE Brazil. *Nat. Prod. Communic.* 5: 471-476.

- Aslan, İ., H. Ozbek, O. Çalmaşur & F. Şahin. 2004.** Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Indian Crop Prod. 19: 167-173.
- Bittner, M.L., M.E. Casanueva, C.C. Arbert, M.A. Aguilera, V.J. Hernández & J.V. Becerra. 2008.** Effects of essential oils from five plant species against the granary weevils *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera). J. Chil. Chem. Soc. 53: 1455-1459.
- Borges, M., M.C.B. Moraes & R. Laumann. 2004.** Armadilha contra os percevejos. Rev. Cultivar 118: 12-14.
- Caballero-Gallardo, K., J. Olivero-Verbel & E.E. Stashenko. 2011.** Repellent activity of essential oils and some of their individual constituents against *Tribolium castaneum* herbst. J Agric Food Chem 59: 1690-1696.
- Chang, C.L., I.K. Cho & Q.X. Li. 2009.** Insecticidal activity of basil oil, trans-anethole, estragole, and linalool to adult fruit flies of *Ceratitis capitata*, *Bactrocera dorsalis*, and *Bactrocera cucurbitae*. J. Econ. Entomol. 102: 203-209.
- Choi, W., E. Lee, B. Choi, H. Park & Y. Ahn. 2003.** Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 96: 1479-1484.
- Collier, K.F.S., G.S. Albuquerque, A.E. Eiras, J.L. Blackmer, M.C. Araújo & L.B. Monteiro. 2001.** Estímulos olfativos envolvidos na localização de presas pelo ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) em macieiras e plantas hospedeiras alternativas. Neotrop. Entomol. 30: 631-639.
- Craveiro, A.A. & D.C. Queiroz. 1993.** Óleos essenciais e química fina. Quím. Nova 16: 224-228.
- [DARP]. 2012.** Database of Arthropods Resistance to Pesticides. <http://www.pesticideresistance.org/DB/index.html>
- Eleni, M., M. Antonios, K. George, S. Alexios-Leandros & M. Prokopios. 2009.** High quality bergamot oil from Greece: chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against the West Nile virus vector. Molecules 14: 839-849.
- Flamini, G. 2006.** Acaricides of natural origin. Part 2. Nat. Prod. Communic. 1: 1151-1158.
- Flechtmann, C.A.H. 1983.** Dois ácaros novos para o Eucalipto, com uma lista daqueles já assinalados para esta planta. IPEF 23: 43-46.

- Freitas, F.P., S.P. Freitas, G.C.S. Lemos, I.J.C. Vieira, G.A. Gravina & F.J.A. Lemos. 2010.** Comparative larvicidal activity of essential oils from three medicinal plants against *Aedes aegypti* L. Chem. Biodiv. 7: 2801-2807.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. de Baptista, E.B. 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. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- George, D.R., T.J. Smith, R.S. Shiel, O.A.E. Sparagano & J.H. Guy. 2009.** Mode of action and variability in efficacy of plant essential oils showing toxicity against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Vet. Parasitol. 161: 276-282.
- George, D.R., O.A.E. Sparagano, G. Port, E. Okello, R.S. Shiel, J.H. Guy. 2010.** The effect of essential oils showing acaricidal activity against the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) on aspects of welfare and production of laying hens. Anim. Welfare 19: 265-273.
- Gonçalves, M.E.C., J.V. Oliveira, R. Barros & M.P.L. Lima. 2001.** Extratos aquosos de plantas e o comportamento do ácaro verde da mandioca. Sci. Agric. 58: 475-479.
- Gonzales, J.O.W., M.M. Gutierrez, A.P. Murray & A.A. Ferrero. 2011.** Composition and biological activity of essential oils from Labiatae against *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) soybean pest. Pest Manage. Sci. 67: 948-955.
- Govindarajan, M. 2011.** Larvicidal and repellent properties of some essential oils against *Culex tritaeniorhynchus* Giles and *Anopheles subpictus* Grassi (Diptera: Culicidae). Asian Pacific J. Trop. Med. 4: 106-111.
- Hou, H., J. Feng, A. Chen & X. Zhang. 2002.** Studies on the bioactivity of essential oils against insects. Nat. Prod. Res. Develop. 14: 27-30.
- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603-608.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51: 45-66.
- Isman, M.B., S. Miresmailli & C.M. Machial. 2010.** Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. Phytochem. Rev. 9: 1-8.
- Jeong, E.Y., J.H. Lim, H.G. Kim & H.S. Lee. 2008.** Acaricidal activity of *Thymus vulgaris* oil and its main components against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored food mite. J. Food Prot. 71: 351-355.
- Khater, H.F., M.Y. Ramadan & R.S. El-Madawy. 2009.** Lousicidal, ovicidal and repellent efficacy of some essential oils against lice and flies infesting water buffaloes in Egypt. Vet. Parasitol. 164: 257-266.

- Koschier, E.H. & K.A. Sedy. 2003.** Labiate essential oils affecting host selection and acceptance of *Thrips tabaci* Lindeman. *Crop Prot.* 22: 929-934.
- Kostyukovsky, M., U. Ravis & E. Shaaya. 2002.** The potential use of plant volatiles for the control of stored product insects and quarantine pests in cut flowers. *Acta Hortic.* 576: 347-358.
- Lamiri, A., S. Lhaloui, B. Benjilali & M. Berrada. 2001.** Fumigant activity of essential oils on *Sitophilus granarius* (Linne). *Phys. Chem. News* 1: 101-105.
- Lee, B.H., W.S. Choi, S.E. Lee & B.S. Park. 2001.** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the Rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Prot.* 20: 317-320.
- Lee, C., S. Lee & H. Lee. 2010a.** Acaricidal effects of *Thymus vulgaris* leaf-derived materials and monoterpene alcohols against *Dermatophagoides* spp. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 53: 170:174.
- 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.
- Martinez-Velazquez, M., R. Rosario-Cruz, G. Castillo-Herrera, J.M. Flores-Fernandez, A.H. Alvarez & E. Lugo-Cervantes. 2011a.** Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 48: 822-827.
- Martinez-Velazquez, M., G.A. Castillo-Herrera; R. Rosario-Cruz, J.M. Flores-Fernandez, J. Lopez-Ramirez, R. Hernandez-Gutierrez & E.C. Lugo-Cervantes. 2011b.** Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 108: 481-187.
- Merlino, T. 2009.** O veneno no pão nosso de cada dia. <http://carosamigos.terra.com.br> Acesso em: 23 maio 2010.
- Mesbah, H.A., A.K. Mourad & A.Z.M. Rokaia. 2006.** Efficacy of some plant oils alone and/or combined with different insecticides on the cotton leaf-worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) in Egypt. *Comm. Agr. Appl. Biol. Sci.* 71: 305-328.
- Mikhaiel, A.A. 2011.** Potential of some volatile oils in protecting packages of irradiated wheat flour against *Ephesia kuehniella* and *Tribolium castaneum*. *J. Stored Prod. Res.* 47: 357-364.

- Miresmailli, S., R. Bradbury & M.B. Isman. 2006.** Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Manage. Sci.* 62: 366-371.
- Mohamed, M.I.E. & 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). *Appl. Entomol. Zool.* 43: 599-607.
- Moraes, G.J. 2001.** Pequeno, mas danoso. *Rev. Cultivar* 28: 10-12.
- Moraes, G.J. & C.H.W. Flechtmann. 2008.** Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos Editora, 308p.
- Nerio, L.S., J. Olivero-Verbel & E.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.
- Ngamo, L.S.T., M.B. Ngassoum, L. Jirovetz, A. Ousman, E.C. Nukenine & O.E. Mukala. 2001.** Protection of stored maize against *Sitophilus zeamais* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent* 66: 473-478.
- Odeyemi, O.O., P. Masika & A.J. Afolayan. 2008.** Evaluation of the activities of five essential oils against the stored maize weevil. *Nat. Prod. Communic.* 3: 1097-1102.
- Palacios, S.M., A. Bertoni, Y. Rossi, R. Santander & A. Urzua. 2009.** Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. *Molecules* 14: 1938-1947.
- Papachristos, D.P., K.I. Karamanoli, D.C. Stamopoulos & U. Menkissoglu-Spiroudi. 2004.** The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Pest Manage. Sci.* 60: 514-520.
- Pascual-Villalobos, M.J. & M.C. Ballesta-Acosta. 2003.** Chemical variation in a *Ocimum basilicum* germoplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Biochem. Syst. Ecol.* 31: 673-679.
- Pavela, R. 2006.** Insecticidal activity of essential oils against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *J. Essent. Oil Bear. Pl.* 9: 99-106.
- Pavela, R. 2005.** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia* 76: 691-696.
- Peixoto, M.F., R.V. Barbosa, R.R.C. Oliveira, P.M. Fernandes & R.B. Costa. 2008.** Amostragem do ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e eficiência de acaricidas no seu controle na cultura do algodoeiro irrigado. *Bioscience J.* 25: 24-32.

- Pereira, A., J.V. de Oliveira, M.G. Gondim Júnior & C.A.G. da Camara. 2008.** Insecticide activity of essential and fixed oils in *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) in cowpea grains *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Ciênc. Agrotec. 32: 717-724.
- Rai, M. & M.C. Carpinella. 2006.** Naturally occurring bioactive compounds. Oxford, Elsevier, 514 p.
- Refaat, A.M., F.M. Momen & S.A.A. Amer. 2002.** Acaricidal activity of sweet basil and French lavender essential oils against two species of mites of the family Tetranychidae (Acari: Tetranychidae). Acta Phytopathol. Hungary 37: 287-298.
- Regnault-Roger, C., M. Ribodeau, A. Hamraoui, I. Bateau, P. Blanchard, M. Gil-Munoz & F.T. Barberan. 2004.** Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of orientational effects on *Acanthoscelides obtectus* (Say). J. Stored Prod. Res 40: 395-408.
- Regnault-Roger, C., C.Vincent & J.T. Arnason. 2012.** Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. Annu. Rev. Entomol. 57: 405-424.
- Ribeiro, N.C., C.A.G. Camara, F.S. Born & H.A.A. Siqueira. 2010.** Insecticidal activity against *Bemisia tabaci* biotype B of peel essential oil of *Citrus sinensis* var. pear and *Citrus aurantium* cultivated in northeast Brazil. Nat. Prod. Communic. 5: 1819-1822.
- Rozman, V., I. Kalinovic & A. Liska. 2006.** Insecticidal activity of some aromatic plants from Croatia against granary weevil (*Sitophilus granarius* L.) on stored wheat. Cereal Res. Communic. 34: 705-708.
- Rozman, V., I. Kalinovic & Z. Korunic. 2007.** Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. J. Stored Prod. Res. 43: 349-355.
- Saad, El-Zemity; Hussein, Rezk; Saher, Farok; Ahmed, Zaitoon. 2006.** Acaricidal activities of some essential oils and their monoterpenoidal constituents against house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). J. Zhejiang Univ. Sci. B 7: 957-962.
- Santiago, G.M.P., T.L.G. Lemos, O.D.L. Pessoa, A.M.C. Arriaga, F.J.A. Matos, M.A.S. Lima, H.S. Santos, M. Conceição, L. Lima, F.G. Barbosa, J.H.S. Luciano, E.R. Silveira & G.H.A. Menezes. 2006.** Larvicidal activity against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) of essential oils of *Lippia* species from Brazil. Nat. Prod. Communic 1: 573-576.
- Sato, M.E., C.M. Passerotti, A.P. Takematsu, M.F. de Souza Filho, M.R. Potenza & A.P. Sivieri. 2000.** Resistência de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) a acaricidas, em pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) em Paranapanema e Jundiaí, SP. Arq. Inst. Biol. 67: 117-123.
- Sato, M.E., T. Miyata, M. da Silva, A. Raga & M.F. de Souza Filho. 2004.** Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, cross-resistance and stability of

fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Appl. Entomol. Zool. 39: 293-302.

Sato, M.E., M.Z. da Silva, K.G. Cangani & A. Raga. 2007a. Seleções para resistência e suscetibilidade, detecção e monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* ao acaricida clorfenapir. Bragantia 66: 89-95.

Sato, M.E., M.Z. da Silva, M.F.S. Filho, A.L. Matioli & A. Raga. 2007b. Management of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in strawberry fields with *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) and acaricides. Exp. Appl. Acarol. 42: 107-120.

Sener, O., M. Arslan, N. Demirel & I. Uremis. 2009. Insecticidal effects of some essential oils against the confused flour beetle (*Tribolium confusum* du Val) (Col.: Tenebrionidae) in stored wheat. Asian J. Chem. 21: 3995-4000.

Sertkaya, E., K. Kaya & S. Soylu. 2010. Chemical compositions and insecticidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the cotton whitefly, *Bemisia tabaci*. Asian J. Chem. 22: 2982-2990.

Silva, M.A., J.R.P. Parra & L.G. Chiavegato. 1985. Biologia comparada de *Tetranychus urticae* em cultivares de algodoeiro. I: Ciclo biológico. Pesqu. Agropecu. Bras. 20: 741-748.

Silva, W.J., G.A.A. Doria, R.T. Maia, R.S. Nunes, G.A. Carvalho, A.F. Blank, P.B. Alves, R.M. Marcal, S.C.H. Cavalcanti. 2008. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. Bioresour. Technol. 99: 3251-3255.

Sim, M., D. Choi & Y. Ahn. 2006. Vapor phase toxicity of plant essential oils to *Cadra cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). J Econ Entomol 99: 593-598.

Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosmann, & J.C.P. Mello, (Ed.). 2002. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4.ed. PortoAlegre: Ed. Universidade/UFRS.

Singh, G., O.P. Singh, P. Rao, P.K. Singh & K.P. Pandey. 2001. Studies on essential oils, part 29: Insecticidal activity of some volatile oils and monoterpenoids against white termite (*Odontotermes obesus* Rhamb). Sugar Cane Int. Nov.: 18-20.

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.

Trongtokit, Y., Y. Rongsriyam, N. Komalamisra & C. Apiwathnasorn. 2005. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. Phytother. Res. 19: 303-309.

Tunaz, H., M.K. Er & A.A. Isikber. 2009. Fumigant toxicity of plant essential oils and selected monoterpenoid components against the adult German cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae). Turk. J. Agric. For. 33: 211-217.

Tunc, I, B.M. Berger, F.Erler & F. Dagli. 2000. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *J. Stored Prod. Res.* 36: 161-168.

Verma, N., A.K. Tripathi, V. Prajapati, J.R. Bahal, R.P.Bansal, S.P.S. Khanuja & S. Kumar. 2001. Toxicity of essential oil from *Lippia alba* towards stored grain insects. *J. Med. Aromatic Pl. Sci.* 22/4A-23/1A: 117-119.

Walling, L.L. 2000. The myriad plant responses to herbivores. *J. Pl. Growth Regul* 19: 195-216.

Yang, Y., H. Lee, J.M. Clark & Y. Ahn. 2004. Insecticidal activity of plant essential oils against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *J. Med. Entomol.* 41: 699-704.

CAPÍTULO 2

AÇÃO FUMIGANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E MISTURAS DE CONSTITUINTES SELECIONADOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Protium* (BURSERACEAE) CONTRA *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)¹

FLÁVIA S. BORN², CLÁUDIO A.G. CÂMARA³, MANOEL G.C. GONDIM JÚNIOR² E HERBERT A.A.
SIQUEIRA²

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

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

¹Born, F.S., C.A.G. Câmara, M.G.C. Gondim Júnior & H.A.A. Siqueira. Ação fumigante de óleos essenciais e misturas de constituintes selecionados de espécies do gênero *Protium* (Burseraceae) contra *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Ciência e Agrotecnologia.

RESUMO - Uma estratégia que tem sido intensificada recentemente em todo o mundo como alternativa aos pesticidas sintéticos convencionais é o uso de óleos essenciais como ingredientes ativos. As atividades fumigantes dos óleos essenciais das folhas de *Protium aracouchine* (Aubl.) Marchand e *P. giganteum* Engl. (Burseraceae) contra *Tetranychus urticae* Koch foram determinadas. Além disso, a toxicidade dos monoterpenos D-Limoneno, Linalol, α -Terpineol e sesquiterpenos α -Humuleno e β -Cariofileno, e suas misturas também foram avaliadas. *Tetranychus urticae* foi altamente suscetível a *P. aracouchine* (CL₅₀ = 1,29 μ L/L de ar), que foi de 5,2 vezes mais tóxico do que *P. giganteum*. A menor concentração usada para reduzir significativamente o número de ovos postos pelos ácaros fêmeas também foi promovido por *P. aracouchine* (0,4 μ L/L de ar). Entre os mono e sesquiterpenos testados, a toxicidade mais potente foi obtida para β -Cariofileno, (CL₅₀ = 0,05 μ L/L de ar), seguido por α -Terpineol (CL₅₀ = 0,77 μ L/L de ar), Linalol (CL₅₀ = 0,78 μ L/L de ar), α -Humuleno (CL₅₀ = 1,86 μ L/L de ar) e D-Limoneno (CL₅₀ = 9,80 μ L/L de ar). A toxicidade das misturas desses constituintes indicou que a mistura completa dos constituintes selecionados a partir de *P. giganteum* (α -Terpineol, α -Humuleno e β -Cariofileno) mostraram o mesmo nível de toxicidade obtida para o óleo natural, enquanto para a mistura dos constituintes de *P. aracouchine* (Linalol, D-Limoneno e α -Terpineol) a toxicidade foi muito menor comparado ao óleo natural. Toxicidade relativa desses compostos e sua contribuição para a atividade acaricida observada para os óleos de *Protium* investigados também são discutidos.

PALAVRAS-CHAVE: Acaricida natural, β -cariofileno, α -humuleno, α -terpineol, linalol

FUMIGANT ACTION OF THE ESSENTIAL OILS AND BLENDS OF SELECTED
CONSTITUENTS FROM *Protium* (BURSERACEAE) SPECIES AGAINST *Tetranychus urticae*
(ACARI: TETRANYCHIDAE)

ABSTRACT - One strategy that has been intensified lately around the world as alternatives to conventional synthetic pesticides is the use of essential oil as active ingredients. The fumigant actions of essential oil leave of *Protium aracouchine* (Aubl.) Marchand e *P. giganteum* Engl. (Burseraceae) against *Tetranychus urticae* Koch were determined. Moreover, the toxicity of monoterpenes D-Limoneno, Linalool, α -Terpineol and sesquiterpenes α -Humulene and β -Caryophyllene and its blends were also evaluated. *Tetranychus urticae* was highly susceptible to *P. aracouchine* oil ($LC_{50} = 1.29\mu\text{L/L air}$) which was 5.2 fold more toxic than *P. giganteum* oil. Lowest *Protium* oils concentration used in fumigation bioassay to reduce significantly the number of egg laid by mites female was also promoted by *P. aracouchine* oil ($0.4\mu\text{L/L air}$). Among mono and sesquiterpenes oil constituents tested, the most potent toxicity was found with β -Caryophyllene, ($LC_{50} = 0.05\mu\text{L/L air}$) followed by α -Terpineol ($LC_{50} = 0.77\mu\text{L/L air}$), Linalool ($LC_{50} = 0.78\mu\text{L/L air}$), α -Humulene ($LC_{50} = 1.86\mu\text{L/L air}$) and D-Limonene ($LC_{50} = 9.80\mu\text{L/L air}$). The toxicity of blends of selected constituents indicated that the full mixture of constituents selected from *P. giganteum* (α -Terpineol, α -Humulene and β -Caryophyllene) showed toxicity level of the natural oil, while the mixture of *P. aracouchine* constituents (Linalool, D-Limonene and α -Terpineol) showed much lower toxicity compared with natural oil. Relative toxicity of the mono and sesquiterpenes and its contribution to acaricidal activity showed by *Protium* oils are also discussed.

KEY WORDS: Natural acaricide, β -caryophyllene, α -humulene, α -terpineol, linalool

Introdução

O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch, considerado uma das principais pragas do mundo, é uma espécie cosmopolita e polífaga, que tem causado danos em várias espécies de plantas (Flamini 2006). A ocorrência dessa praga no Estado de Pernambuco tem causado grandes prejuízos aos agricultores, atacando diferentes culturas de interesse agrícola e/ou ornamental, como flores de corte. Basicamente, a principal forma de redução da infestação dessa praga nesses cultivos tem sido realizada com o uso de acaricidas convencionais, fato que comumente tem ocasionado resíduos para o meio ambiente. Atualmente, o Brasil é o maior consumidor de pesticidas sintéticos do mundo (Merlino 2009). Esse fato é preocupante e tem chamado a atenção de vários setores da sociedade, que tem buscado alternativas para minimizar esse consumo, incentivando à pesquisa por produtos alternativos para uma eventual substituição, como por exemplo, os acaricidas botânicos.

Entre os produtos alternativos, derivados vegetais que atendem aos pré-requisitos de menor agressão ao meio ambiente com baixa toxicidade aos mamíferos destacam-se os óleos essenciais, que nas últimas décadas têm sido amplamente investigados para o manejo integrado de várias pragas, ocupando um lugar de destaque na busca por alternativas aos pesticidas sintéticos (Pereira *et al.* 2008, Silva *et al.* 2008, Pereira *et al.* 2009, Araújo *et al.* 2010, Ribeiro *et al.* 2010, Coitinho *et al.* 2011).

Óleos essenciais apresentam uma composição complexa, com centenas de componentes. A grande maioria dos componentes identificados em óleos essenciais incluem terpenos (oxigenados ou não), prevalecendo monoterpenos e sesquiterpenos. As propriedades biológicas inerentes aos óleos essenciais são conhecidas desde tempos remotos e, por isso, têm sido usados como remédios, perfumes, condimentos, etc. em várias regiões do mundo e só recentemente têm sido comercializados para o controle de pragas (Isman *et al.* 2010). O Brasil é o país com a maior

diversidade genética vegetal do mundo e, particularmente no Estado de Pernambuco, a ocorrência de plantas produtoras de óleos essenciais é bastante significativa, mas pouco se sabe sobre o seu potencial acaricida. É o caso das espécies *Protium aracouchine* (Aubl.) Marchand e *P. giganteum* Engl., conhecidas popularmente por almécega, que crescem naturalmente nos fragmentos de Mata Atlântica situados ao norte de Pernambuco. A investigação prévia da composição química dos óleos essenciais das folhas dessas plantas revelou que ambas as espécies são constituídas por mono e sesquiterpenos (Freitas *et al.* 2011), de reconhecida propriedade biológica (Bakkali *et al.* 2008).

Como parte do estudo sistemático do potencial acaricida de plantas aromáticas do gênero *Protium* que ocorrem no bioma de Pernambuco (Pontes *et al.* 2007a,b), o objetivo desse estudo foi determinar pela primeira vez a eficácia dos óleos essenciais de duas espécies de *Protium* da Mata Atlântica do Estado de Pernambuco, a partir da avaliação da toxicidade em *T. urticae*, em laboratório. Para um melhor entendimento da eficácia dos óleos testados, a relação de toxicidade entre a ação fumigante e os constituintes individuais: D-Limoneno, Linalol e α -Terpineol, encontrados no óleo de *P. aracouchine*, e α -Terpineol, α -Humuleno e β -Cariofileno no óleo de *P. giganteum* e suas misturas foram também investigadas contra o ácaro rajado.

Material e Métodos

Coleta de Material Vegetal. Folhas frescas de *P. aracouchine* e *P. giganteum* foram coletadas na Mata de Cozinha, em Igarassu, Estado de Pernambuco, em setembro de 2009. As plantas foram identificadas por Henrique Costa Hermenegildo da Silva da Universidade Federal de Alagoas. As exsiccatas foram depositadas no Herbário Vasconcelos Sobrinho da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob os números 49648 (*P. aracouchine*) e 49647 (*P. giganteum*).

Óleos Essenciais e Substâncias Químicas. Os óleos essenciais das folhas de *P. aracouchine* e *P. giganteum* foram isolados por meio da técnica de hidrodestilação e, conforme a investigação fitoquímica desses óleos essenciais reportada previamente por Freitas *et al.* (2011), os terpenóides: β -Cariofileno, α -Terpineol, Linalol, D-Limoneno e α -Humuleno e o Eugenol, usado como controle positivo, foram comprados da Sigma-Aldrich – Brazil.

Criação do Ácaro Rajado. O ácaro rajado utilizado nos experimentos foi obtido da criação do Laboratório de Acarologia Agrícola do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), oriundo de Piracicaba, São Paulo, e criado em laboratório, sem nenhuma exposição a acaricidas, desde 2001. Os ácaros foram criados em feijão-de-porco, *Canavalia ensiformes* L. (Leguminosae), no Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE. A criação do ácaro e todos os experimentos foram realizados à temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $65 \pm 5\%$, e 12h de fotofase.

Bioensaios de Fumigação. A metodologia de fumigação foi a mesma usada por Araújo *et al.* (2010). Recipientes de vidro com capacidade para 2,5 L foram usados como câmaras de fumigação. Fêmeas adultas do ácaro rajado em discos de *C. ensiformes* com 2,5 cm de diâmetro foram expostas aos óleos de *Protium* e aos compostos. Um fino pincel (número 00) foi usado para transferir os ácaros para os discos de folha. Para manter a turgidez dos discos e evitar a fuga dos ácaros, os discos de folhas foram colocados sobre discos de papel filtro saturados com água destilada em placas-de-petri (8 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura). Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Uma replicata consistiu de 30 ácaros colocados em três discos de folhas (10 ácaros por disco) em uma placa-de-petri. Os óleos e os compostos foram aplicados com pipetas automáticas em um pedaço de papel filtro (5 x 3 cm) preso nas tampas das câmaras de fumigação. As concentrações dos óleos de *Protium* usadas nos experimentos variaram de 0,2 a 14,4 $\mu\text{L/L}$ de ar e do controle positivo eugenol variou de $6,4 \times 10^{-5}$ a 1,2 $\mu\text{L/L}$ de ar. As

concentrações dos compostos β -Cariofileno, Linalol, Limoneno, α -Terpineol e α -Humuleno variaram de $3,2 \times 10^{-4}$ a $16,0 \mu\text{L/L}$ de ar. Os recipientes controle não continham óleos essenciais ou outros produtos.

Após um período de exposição de 24h foram realizadas as avaliações, onde foram considerados mortos 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 (número 00).

O efeito das concentrações subletais também foi analisado a partir do registro do número de ovos postos pelas fêmeas tratadas e os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$. Os dados de mortalidade para os óleos de *Protium*, compostos individuais e eugenol foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) usando Statistical Analysis System Software (SAS Institute 2002). Os mesmos dados foram também analisados pelo modelo de Probit através do Software POLO-PC para a determinação dos valores das CL_{50} , com intervalos de confiança a 95% determinado em todos os experimentos (LeOra 1987). A metodologia de Robertson & Preisler (1992) foi usada para o cálculo das razões de toxicidade com intervalos de confiança a 95%. As razões de toxicidade foram consideradas significativas quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

Toxicidade Comparativa dos Óleos Essenciais de *Protium* e Compostos Seleccionados e suas Misturas. Os compostos avaliados quanto ao potencial fumigante foram seleccionados a partir da composição química dos óleos de *P. aracouchine* (Limoneno, Linalol, α -Terpineol) e *P. giganteum* (α -Terpineol, α -Humuleno e β -Cariofileno). O mesmo procedimento experimental utilizado para avaliar a ação fumigante dos óleos de *Protium* foi empregado para os compostos individuais e suas misturas. A concentração responsável por matar 50% da população de ácaros (CL_{50}) foi estimada para todos os constituintes seleccionados. Para se determinar o nível de contribuição de cada um dos componentes na toxicidade observada para os óleos de *Protium*

foram preparadas, a partir dos constituintes previamente selecionados, misturas completas e misturas retirando um dos componentes da mistura completa. A proporção (% relativo) entre os constituintes selecionados na preparação de cada uma das misturas foi a mesma encontrada para cada um dos constituintes selecionados nos óleos de *P. aracouchine* (Limoneno: 0,8%, Linalol: 0,4%, α -Terpineol: 0,4%) e *P. giganteum* (α -Terpineol: 0,3%, α -Humuleno: 6,4% e β -Cariofileno: 26,0%) (Freitas *et al.* 2011). A ação fumigante das misturas foi avaliada nas concentrações em que os óleos de *P. aracouchine* (8,0 μ L/L de ar) e *P. giganteum* (14,7 μ L/L de ar) apresentaram maior atividade. Os dados obtidos foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (SAS Institute 2002).

Resultados e Discussão

Em condições de laboratório, os óleos de *P. aracouchine* e *P. giganteum* apresentaram considerável efeito acaricida sobre *T. urticae*. A Figura 1 apresenta a mortalidade e quantidade de ovos postos pelos ácaros em diferentes concentrações dos óleos de *Protium* e o controle positivo (eugenol) nos testes de fumigação. Os ácaros foram mais susceptíveis ao óleo de *P. aracouchine* que promoveu 98,0% de mortalidade em 8,0 μ L/L de ar, enquanto *P. giganteum* em 14,4 μ L/L de ar apresentou 99,0% de mortalidade.

Uma redução do número de ovos foi observada para esses óleos. As mínimas concentrações dos óleos que causaram uma redução significativa na oviposição foram 0,4 μ L/L de ar para *P. aracouchine* e 4,8 μ L/L de ar para *P. giganteum*, enquanto para o eugenol, a menor concentração foi 100 vezes menor do que a obtida para o óleo de *P. aracouchine*. Entre os componentes dos óleos testados individualmente, o melhor resultado para a redução de ovos foi para o β -Cariofileno, que causou redução significativa na oviposição, comparada com o controle negativo, na concentração de $3,2 \times 10^{-4}$ μ L/L de ar, apenas cinco vezes maior do que a obtida para o

controle positivo eugenol (Figs. 1 e 2). Esses resultados sugerem que a exposição a esses óleos não impede a oviposição, mas causa uma drástica redução do número de ovos, principalmente quando os ácaros são expostos à mínima concentração testada para o óleo de *P. aracouchine*.

As respostas de concentração-mortalidade de *T. urticae* aos óleos de *Protium* e o eugenol foram comparadas através das CL₅₀. Os valores estimados para os óleos de *Protium* e o eugenol são mostrados na Tabela 1. Comparando as toxicidades entre os óleos de *Protium*, *P. aracouchine* foi 5,2 vezes mais tóxico do que *P. giganteum*, no entanto, o eugenol foi 322 vezes mais ativo do que *P. aracouchine* (Tabela 1).

Nenhum estudo sobre ação acaricida dos óleos essenciais de *P. aracouchine* e *P. giganteum* foi encontrado na literatura, no entanto, óleos essenciais de outras espécies pertencentes ao gênero *Protium* foram investigadas quanto à sua toxicidade sobre *T. urticae*. Pontes *et al.* (2007a) estudaram a ação fumigante do óleo essencial de folhas e frutos de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand e verificaram que, a uma concentração de 10 µL/L de ar, após 24 h de exposição, o óleo das folhas promoveu uma mortalidade de 43,3% dos ácaros, enquanto o óleo dos frutos, na mesma concentração causou 34,6% de mortalidade. Por outro lado, os mesmos autores registraram que a redução do número de ovos postos pelas fêmeas foi de 87,0 e 84,0%, quando expostos a 10 µL/L de ar dos óleos dos frutos e folhas de *P. heptaphyllum*, respectivamente.

A atividade fumigante dos óleos essenciais de resinas frescas e velhas da espécie *P. bahianum* Daly foi estudada por Pontes *et al.* (2007b). Os resultados obtidos para os óleos das resinas frescas e velhas na concentração de 10 µL/L de ar, após 24 h de exposição, revelaram que os percentuais de mortalidade de *T. urticae* obtidos foram de 38,6 e 31,0, respectivamente. Uma redução na quantidade de ovos postos pelos ácaros também foi observada quando as fêmeas foram expostas a 10 µL/L de ar. Para o óleo da resina fresca essa redução foi de cerca de 87,0% e para o óleo da resina velha de 86,0%.

Quando comparados os resultados encontrados na literatura para ação fumigante de diferentes espécies de *Protium* sobre *T. urticae* com os obtidos no presente estudo, os óleos essenciais de *P. aracouchine* e *P. giganteum* podem ser considerados promissores para o controle do ácaro rajado, uma vez que promoveram alta mortalidade dos ácaros em concentrações de 8,0 e 14,4 µL/L de ar.

Análise química desses óleos realizada por (Freitas *et al.* 2011) indicou que eles são constituídos por uma mistura complexa de terpenóides com alta quantidade de sesquiterpenos, seguido dos monoterpenos, perfil químico comum encontrado nos óleos das folhas de espécies do gênero *Protium*. Por apresentarem um perfil químico qualitativo e quantitativo diversificado, as propriedades biológicas dos óleos essenciais podem apresentar efeitos sinérgicos, antagônicos ou aditivos entre os diferentes constituintes químicos ativos, os quais contribuem para a mesma atividade. Entretanto, poucos são os estudos voltados para o potencial acaricida de um óleo essencial que leve em consideração, não só a eficácia das propriedades dos compostos individuais, como também as possíveis interações sinérgicas entre eles através de bioensaios de suas misturas na mesma proporção em que são encontrados no óleo natural. Nesse sentido, a ação fumigante dos compostos individuais selecionados a partir dos óleos de *P. aracouchine* e *P. giganteum* e de suas respectivas misturas foram avaliadas contra o ácaro rajado.

Diferenças significativas foram encontradas nas toxicidades dos compostos testados individualmente quando comparados com os óleos de *Protium*. Os valores estimados para a CL₅₀ dos compostos individuais a partir dos óleos de *P. aracouchine* e *P. giganteum* são descritos na Tabela 1.

Comparando as toxicidades do óleo de *P. aracouchine* e dos constituintes selecionados (D-Limoneno, Linalol e α -Terpineol) avaliados individualmente, apenas o D-Limoneno apresentou toxicidade inferior a do óleo (Tabela 1). Por outro lado, entre os constituintes selecionados a partir

do óleo de *P. giganteum* (α -Terpineol, α -Humuleno e β -Cariofileno), todos apresentaram toxicidade maior do que a do óleo. Esses resultados sugerem com exceção da toxicidade apresentada para o D-Limoneno, que os compostos testados são, em princípio, os responsáveis pela atividade do óleo. De fato, bioensaios com a mistura completa dos componentes dos óleos de *P. giganteum* e *P. aracouchine* nas concentrações em que esses óleos promoveram toxicidade maior do que 97,0% de mortalidade (14,4 e 8,0 μ L/L de ar) mostraram que a mistura dos compostos do óleo de *P. giganteum* (com as mesmas proporções dos constituintes identificados no óleo essencial) promoveu 100% de mortalidade, enquanto que a do óleo de *P. aracouchine*, que contém o D-Limoneno, a toxicidade atingiu apenas 10% de mortalidade.

A baixa toxicidade para essa mistura pode ser explicada devido às interações antagônicas entre o D-Limoneno com os monoterpenos, Linalol e α -Terpineol. A potente atividade observada para a mistura dos componentes do óleo de *P. giganteum* pode ser decorrente das interações sinérgicas ou aditivas entre os constituintes α -Terpineol, α -Humuleno e β -Cariofileno.

As toxicidades obtidas para as misturas binárias, preparadas com os constituintes do óleo de *P. giganteum* são apresentadas na Figura 3. Apesar de as médias de mortalidades não diferirem estatisticamente entre si, constatou-se que a remoção, principalmente do β -Cariofileno promoveu uma pequena redução na mortalidade. Fato semelhante foi encontrado para as misturas dos constituintes do óleo de *P. aracouchine* (Fig. 3), especificamente para o bioensaio da mistura sem o Linalol. Esses resultados sugerem que o Linalol e β -Cariofileno contribuem mais do que os outros compostos para a toxicidade das misturas completas preparadas a partir do óleo de *P. aracouchine* (α -Terpineol e D-Limoneno) e *P. giganteum* (α -Terpineol e α -Humuleno), respectivamente.

Os resultados da presente investigação indicam que os óleos das folhas de *Protium*, especialmente *P. aracouchine*, o qual apresentou a melhor atividade contra *T. urticae* é um bom

candidato para formulações acaricidas. Os principais resultados desse estudo foram sobre as propriedades acaricidas para os constituintes individuais de ambos os óleos em comparação com todas as misturas testadas.

Os resultados obtidos corroboram a hipótese de que o papel exercido pelos constituintes de um óleo essencial, testados isoladamente, pode apresentar toxicidade oposta àquela observada para sua mistura. Consequentemente, entendendo o papel exercido na toxicidade apresentada nas misturas para esses constituintes é possível, a partir dos melhores resultados, selecionar a mistura mais eficaz para elaboração de um produto formulado tendo como ingrediente ativo o óleo essencial para o manejo integrado de uma praga alvo, nesse caso o ácaro rajado.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq Proc. N° 476503/2009-4) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE – APQ N° 0520-55.01/08/ Proc. N° IBPG-0229-5.01/08) pelo suporte financeiro.

Literatura Citada

- Araújo, C.P.Jr., C.A.G. Câmara, I.A. Neves, N.C. Ribeiro, C.A. Gomes, M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three *Citrus* species cultivated in NE Brazil. Nat. Prod. Communic. 5: 471-476.
- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck & M. Idaomar. 2008.** Biological effects of essential oils – A review. Food Chem. Toxicol. 46: 446-475.
- Coitinho, R., J.V. de Oliveira, M.G. Gondim Júnior & C.A.G. da Camara. 2011.** Toxicity by fumigation, contact and ingestion of essential oils in *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). Ciênc. Agrotec. 35: 172-178.
- Flamini, G. 2006.** Acaricides of natural origin. Part 2. Nat. Prod. Communic. 1: 1151-1158.

- Freitas, J.G.R. de, C.A.G. da Camara, D.M.M. Martins & S.H.C.H. 2011.** Volatile constituents of two species of *Protium* from the atlantic rainforest in the state of Pernambuco, Brazil. *Nat. Prod. Communic.* 6: 1727-1730.
- Isman, M.B., S. Miresmailli & C.M. Machial. 2010.** Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochem. Rev.* 9: 1-8.
- LeOra Software. 1987.** POLO - PC: a User's Guide to Probit Logit Analysis. LeOra Software, Berkely, CA.
- Merlino, T. 2009.** O veneno no pão nosso de cada dia. <http://carosamigos.terra.com.br> Acesso em: 23 mai. 2010.
- Pereira, A., J.V. de Oliveira, M.G. Gondim Júnior & C.A.G. da Camara. 2008.** Insecticide activity of essential and fixed oils in *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) in cowpea grains *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Ciênc. Agrotec.* 32: 717-724.
- Pereira, A., J.V. de Oliveira, M.G. Gondim Júnior & C.A.G. da Camara. 2009.** Influence of the storage period of cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. treated with essential and fixed oils, for the control of *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae). *Ciênc. Agrotec.* 33: 319-325.
- Pontes, W.J.T., J.C.S. Oliveira, C.A.G. Camara, A.C.H.R. Lopes, M.G.C. Gondim Junior, J.V. Oliveira, R. Barros & M.O.E. Schwartz. 2007a.** Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). *Acta Amaz.* 37:103-110.
- Pontes, W.J.T., J.C.S. Oliveira, C.A.G. Camara, A.C.H.R. Lopes, M.G.C. Gondim Junior, J.V. Oliveira & M.O.E. Schwartz. 2007b.** 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.
- Ribeiro, N.C., C.A.G. Camara, F.S. Born & H.A.A. Siqueira. 2010.** Insecticidal activity against *Bemisia tabaci* biotype B of peel essential oil of *Citrus sinensis* var. pear and *Citrus aurantium* cultivated in northeast Brazil. *Nat. Prod. Communic.* 5: 1819-1822.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. California, CRC Press, 127p.
- SAS Institute. 2002.** SAS user's guide: Statistics, version 9.0, 7th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Silva, C.G.V., H.B. Zago, H. Junior, C.A.G. da Camara, J.V. Oliveira, R. Barros, M.O.E. Schwartz & M.F.A. Lucena. 2008.** Composition and insecticidal activity of the essential oil of *Croton grewoides* Baill. against Mexican bean weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman). *J. Essent. Oil Res.* 20: 179-182.

Tabela 1. Toxicidade fumigante dos óleos essenciais de *Protium* e terpenos selecionados contra *T. urticae*.

Óleo/Composto ^{1,2,3}	n ⁴	GL ⁵	χ^2 ⁶	Inclinação \pm EP ⁷	CL ₅₀ (μ L/L de ar) (IC 95%)	RT ₅₀ ⁸ (IC 95%)
β -Cariofileno	810	6	9,12	0,80 \pm 0,05	0,05b (0,02-0,08)	12,50* (2,96-52,80)
α -Humuleno	629	4	6,37	1,80 \pm 0,10	1,86d (1,31-2,68)	523,93* (124,30-2208,40)
α -Terpineol	714	5	8,09	4,91 \pm 0,50	0,77c (0,66-0,86)	214,27* (53,27-861,85)
Linalol	617	4	6,93	7,01 \pm 0,52	0,78c (0,71-0,85)	218,09* (53,79-884,21)
D-Limoneno	529	3	7,60	7,35 \pm 0,89	9,80e (7,06-11,39)	2747,23* (543,49-13886,68)
<i>P. aracouchine</i>	630	4	1,46	1,22 \pm 0,11	1,29d (0,99-1,62)	357,78* (85,79-1492,12)
<i>P. giganteum</i>	539	3	1,41	6,27 \pm 0,59	6,65e (6,12-7,15)	1862,20* (496,15-6989,39)
Eugenol	540	3	1,52	0,85 \pm 0,08	4 x 10 ⁻³ a (2x10 ⁻³ -5x10 ⁻³)	-

¹ β -Cariofileno, α -Humuleno e α -Terpineol identificados no óleo de *P. giganteum*

²Linalol, Limoneno e α -Terpineol identificados no óleo de *P. aracouchine*

³Eugenol usado como controle positivo

⁴Número total de ácaros

⁵Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado

⁶Valor do qui-quadrado (P > 0,05)

⁷Erro padrão da média

⁸Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson & Preisler (1992). *Razão de toxicidade significativa a 5% quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0

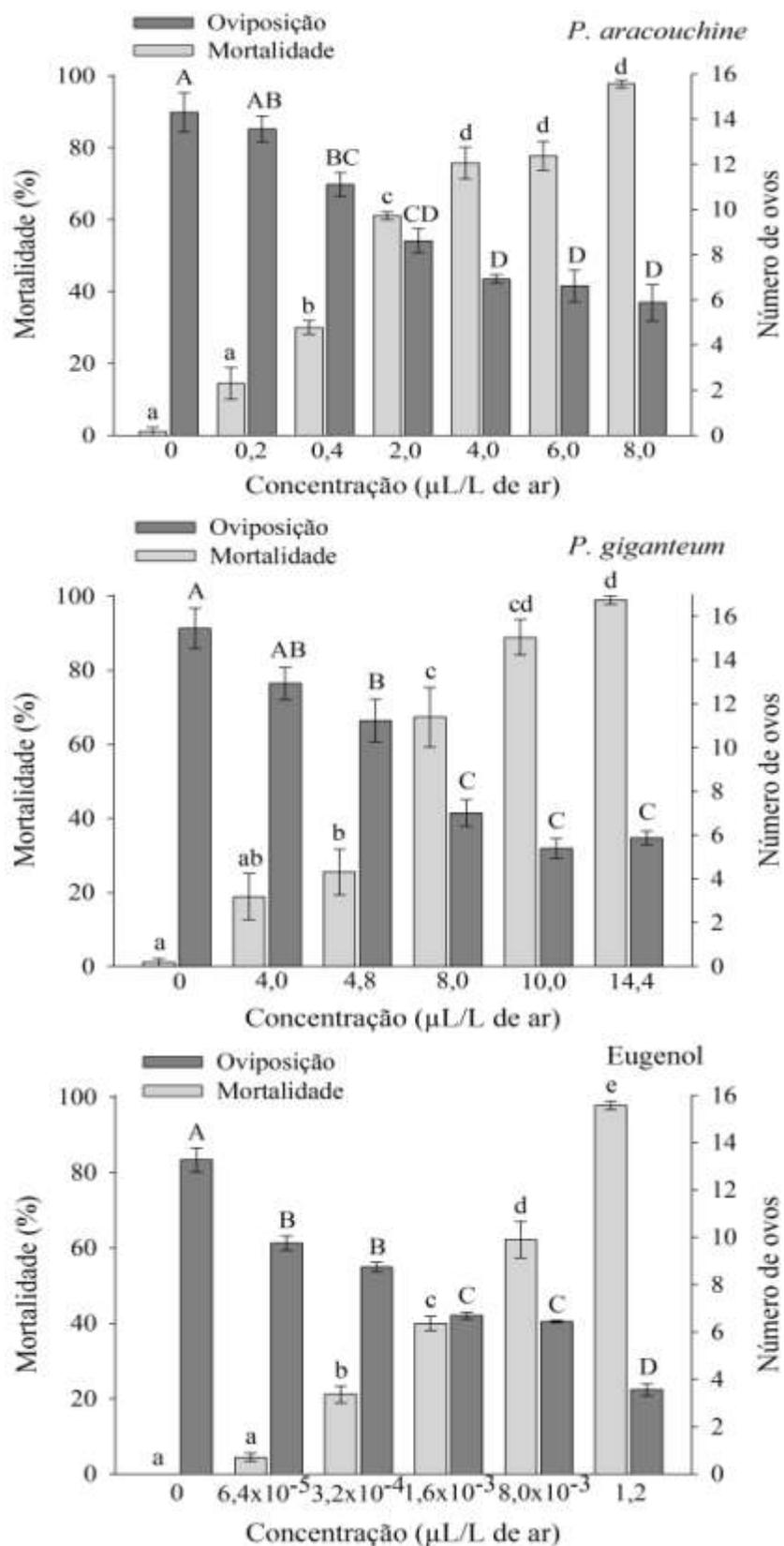


Figura 1. Atividade fumigante dos óleos essenciais de *Protium giganteum* e *Protium aracouchine* e do Eugenol sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

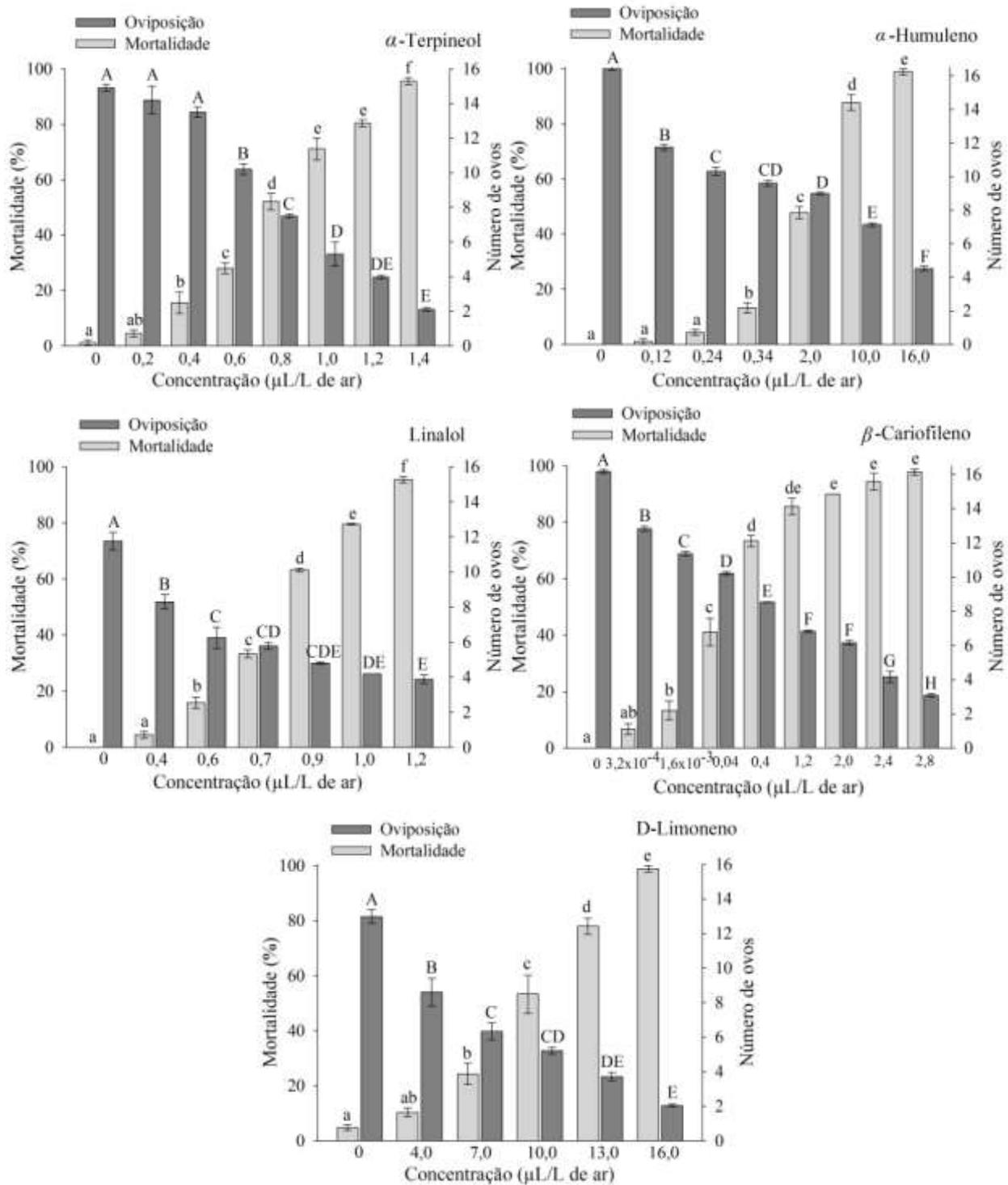


Figura 2. Atividade fumigante dos constituintes isolados dos óleos essenciais de *Protium giganteum* e *Protium aracouchine*, β -Cariofileno, α -Terpineol, Linalol, α -Humuleno e Limoneno sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

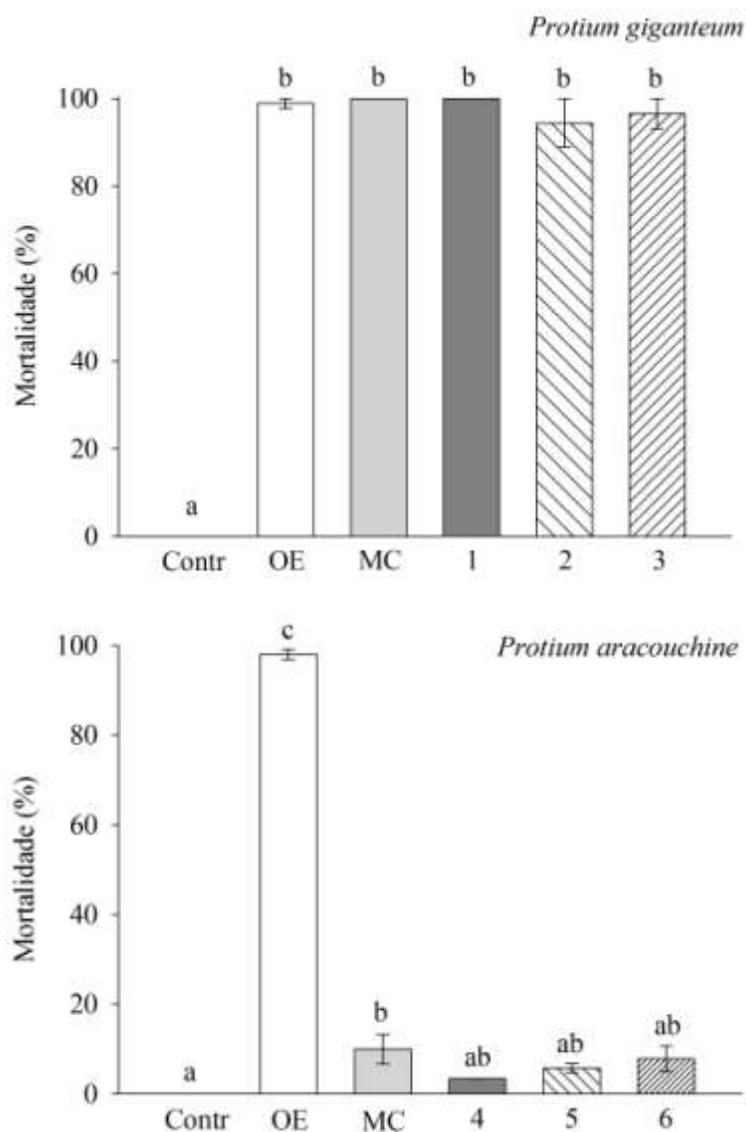


Figura 3. Toxicidade média causada pelos óleos essenciais de *Protium* (Burseraceae), misturas completas e misturas selecionadas dos constituintes contra *Tetranychus urticae*. Barras representam erro-padrão da média. Letras diferentes correspondem a diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). OE indica óleo essencial natural; MC indica mistura completa dos constituintes; todas as outras indicam a mistura completa faltando o constituinte indicado. 1= α -Terpineol, 2= β -Cariofileno, 3 = α -Humuleno, 4= Linalol, 5 = D-Limoneno e 6 = α -Terpineol.

CAPÍTULO 3

ATIVIDADE REPELENTE E TOXICIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DAS
FAMÍLIAS LAMIACEAE, RUTACEAE E VERBENACEAE SOBRE *Tetranychus urticae*
KOCH E *Neoseiulus californicus* (MCGREGOR)¹

FLÁVIA S. BORN², CLÁUDIO A.G. CÂMARA³, MANOEL G.C. GONDIM JÚNIOR² E HERBERT A.A.
SIQUEIRA²

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

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

¹Born, F.S., C.A.G. Câmara, M.G.C. Gondim Júnior & H.A.A. Siqueira. Atividade repelente e toxicidade de óleos essenciais de espécies das Famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae sobre *Tetranychus urticae* Koch e *Neoseiulus californicus* (McGregor). A ser submetido a Crop Protection.

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade de óleos essenciais de espécies das Famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae sobre *Tetranychus urticae* Koch e *Neoseiulus californicus* McGregor em condições de laboratório e casa de vegetação. Os resultados da ação acaricida destes óleos foram comparados com o controle positivo, eugenol. Os óleos de *Ocimum basilicum* L. (CR₅₀ de $3,5 \times 10^{-7}$ μL/mL) e *Thymus vulgaris* L. (CL₅₀ de 0,002 μL/L de ar) apresentaram maiores ação repelente e atividade ovicida, respectivamente, sendo mais ativos do que o eugenol. Por fumigação os ácaros foram mais susceptíveis aos óleos de *Citrus reticulata* Blanco (CL₅₀ de 0,01 μL/L de ar) e *T. vulgaris* (CL₅₀ de 0,02 μL/L de ar), no entanto nenhum óleo foi mais tóxico do que o eugenol. Todos os óleos foram mais seletivos por fumigação ao ácaro predador do que o eugenol. Para o efeito residual, os mais ativos foram os óleos de *C. reticulata*, *T. vulgaris* e *O. basilicum* (CL₅₀ de 9,70; 16,86 e 19,45 μL/mL), apresentando atividade similar a do eugenol. Os testes em casa de vegetação, após 72 h de exposição dos ácaros aos óleos essenciais, revelaram que os óleos de *Citrus sinensis* Osbeck x *Citrus reticulata* Blanco, *Rosmarinus officinalis* L. e *Lippia gracilis* Schauer foram os mais promissores para o controle de *T. urticae* nessas condições. A relação entre as toxicidades dos constituintes químicos selecionados a partir dos óleos de *L. gracilis*, *Citrus aurantium* L., *C. sinensis* x *reticulata* e *T. vulgaris* por fumigação e efeito residual também são discutidas nesse trabalho.

PALAVRAS-CHAVE: Acaricida botânico, ácaro rajado, *Citrus* spp., *Ocimum basilicum*, Phytoseiidae, timol

REPELLENT ACTIVITY AND TOXICITY OF ESSENTIAL OILS OF SPECIES OF
FAMILIES LAMIACEAE, RUTACEAE AND VERBENACEAE ON *Tetranychus urticae*
KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) AND *Neoseiulus californicus* (MCGREGOR)

ABSTRACT - The objective of this study was to determine the toxicity of essential oils of species of the Family Lamiaceae, Rutaceae and Verbenaceae on *Tetranychus urticae* Koch and *Neoseiulus californicus* McGregor in laboratory and greenhouse conditions. The results of acaricidal action of these oils were compared with eugenol, as a positive control. The *Ocimum basilicum* L. ($RC_{50} = 3.5 \times 10^{-7} \mu\text{L/mL}$) and *Thymus vulgaris* L. ($LC_{50} = 0.002 \mu\text{L/L air}$) oils showed greater repellent action and ovicidal activity, respectively, being more active than eugenol. By fumigation the mites were more susceptible to the *Citrus reticulata* Blanco ($LC_{50} = 0.01 \mu\text{L/L air}$) and *T. vulgaris* ($LC_{50} = 0.02 \mu\text{L/L air}$) oils, however no oil was more toxic than eugenol. All oils were more selective to the predatory mite fumigation than eugenol. To the residual effect, were the most active *C. reticulata*, *T. vulgaris* and *O. basilicum* ($LC_{50} = 9.70; 16.86$ and $19.45 \mu\text{L/mL}$) oils, presenting activity similar to the eugenol. The tests in the greenhouse, after 72 h of mite exposure to essential oils, revealed that *Citrus sinensis* Osbeck x *Citrus reticulata* Blanco, *Rosmarinus officinalis* L. and *Lippia gracilis* Schauer oils were the most promising to the control of *T. urticae* under these conditions. The relationship between toxicity of the chemical constituents selected from *L. gracilis*, *Citrus aurantium* L., *C. sinensis* x *reticulata* and *T. vulgaris* oils by fumigation and residual effect are also discussed in this study.

KEY WORDS: Botanical acaricide, two-spotted spider mite, *Citrus* spp., *Ocimum basilicum*, Phytoseiidae, thymol

Introdução

O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch apresenta grande importância econômica em todo o mundo por atacar diversas culturas (Flechtmann 1983, Gallo *et al.* 2002, Beltrão *et al.* 2003). No Estado de Pernambuco essa espécie tem promovido danos a diversas culturas causando prejuízos aos agricultores. Seu primeiro registro no município de Petrolina foi realizado em 1985, com o início dos cultivos irrigados (Moraes 2001).

O controle dessa espécie pode ser realizado com ácaros predadores da família Phytoseiidae, os quais são considerados os inimigos naturais mais importantes para o controle biológico de *T. urticae* (Moraes *et al.* 2004), como por exemplo, a espécie *Neoseiulus californicus* (McGregor). No entanto, a forma mais utilizada para o controle dessa praga tem sido mediante a aplicação de acaricidas químicos sintéticos. Estes produtos têm promovido a ocorrência de efeitos adversos em consequência das repetidas aplicações podendo resultar em impactos indesejáveis ao homem e ao ecossistema, aumentando a possibilidade do surgimento de resistência (Gonçalves *et al.* 2001).

Como alternativa aos produtos químicos sintéticos, os acaricidas botânicos vêm se destacando por apresentarem baixa toxicidade aos mamíferos, além de causar menos problemas ao agroecossistema. Entre esses produtos destacam-se os óleos essenciais, que atualmente têm sido bastante estudados contra várias pragas de importância agrícola e são promissores para o controle de *T. urticae* (Pereira *et al.* 2008, Araújo *et al.* 2010, Cavalcanti *et al.* 2010, Han *et al.* 2010, Ribeiro *et al.* 2010, Zapata & Smagghe 2010, Jemâa *et al.* 2012).

Diversos estudos relatam a toxicidade sobre as formas adultas e pouca atenção tem sido dada às propriedades de óleos essenciais sobre ovos do ácaro rajado (Choi *et al.* 2004). Além de serem, em geral, mais seletivos aos inimigos naturais, uma vantagem do uso de óleos essenciais como alternativa aos inseticidas convencionais é que a provável resistência desenvolvida pelas

pragas a estes produtos é bastante reduzida devido à complexa mistura de constituintes químicos presentes nesses óleos, que atuam por diferentes modos de ação (Alkofahi *et al.* 1989).

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo investigar a ação de óleos essenciais com propriedades acaricidas tendo como princípio ativo óleos essenciais das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae sobre as formas adulta e de ovo de *T. urticae* e que sejam seletivos ao ácaro predador *N. californicus*.

Material e Métodos

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia e os óleos essenciais foram obtidos no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Ciências Moleculares, ambos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Material Vegetal e Obtenção dos Óleos Essenciais. As espécies vegetais selecionadas para o estudo estão especificadas na Tabela 1. Os óleos essenciais foram obtidos a partir de folhas frescas das espécies vegetais. As folhas de cada espécie foram separadamente trituradas com água destilada e os óleos obtidos por meio da técnica de hidrodestilação por 2h em aparelho tipo Clevenger modificado. Os óleos essenciais foram separados da água por diferença de densidade e então secos com sulfato de sódio anidro. Cada óleo foi armazenado sob refrigeração (+5°C) em recipientes de vidros vedados antes dos estudos.

Substâncias químicas. Os constituintes químicos utilizados nos experimentos foram selecionados com base na composição química dos óleos essenciais de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), alecrim da chapada (*Lippia gracilis* Schauer), lima-da-pérsia (*Citrus aurantium* L.) e tangerina murcot (*Citrus sinensis* Osbeck x *Citrus reticulata* Blanco). Os constituintes químicos selecionados foram: β -pineno, *p*-cimeno, timol, α -humuleno, D-Limoneno, terpinoleno, linalol, mentol,

geraniol, nerolidol, terpinen-4-ol, 1,8-cineol, safrol, carvacrol e β -Cariofileno, e foram comprados pela Sigma-Aldrich – Brasil.

Criação de *T. urticae*. O ácaro rajado utilizado nos experimentos foi obtido da criação do Laboratório de Acarologia Agrícola do Departamento de Agronomia da UFRPE, oriundo de Piracicaba, São Paulo, e criado em laboratório, sem nenhuma exposição a acaricidas, desde 2001. Os ácaros foram criados em plantas de feijão-de-porco - *Canavalia ensiformes* L. (Leguminosae) -, no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia da UFRPE, sob condições de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $65 \pm 5\%$ e fotofase de 12 h.

Criação de *Neoseiulus californicus*. O ácaro predador foi obtido da criação do Laboratório de Acarologia Agrícola do Departamento de Agronomia da UFRPE, oriundo de Bonito, Pernambuco, e criado em laboratório, sem nenhuma exposição a acaricidas, desde 2010.

A metodologia de criação do ácaro predador foi adaptada de Monteiro (2002). Os ácaros foram criados em arenas plásticas mantidas em B.O.D. à temperatura média de 27°C e 12 h de fotofase. Cada arena foi confeccionada com um disco de espuma de polietileno umedecido com água destilada. Um disco de papel filtro foi colocado sobre a espuma no qual foi mantida uma folha de feijão-de-porco com a margem circundada por algodão hidrófilo umedecido para evitar a fuga dos ácaros. Para estimular a oviposição foram colocadas fibras de algodão sobre as folhas de feijão-de-porco. Como fonte de alimento, a cada dois dias foram oferecidos *T. urticae* e pólen de mamona *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae).

Atividade Repelente dos Óleos Essenciais sobre *T. urticae*. 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 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 divididos em áreas iguais de $9,8 \text{ cm}^2$

com um espaço neutro de 0,3 cm entre elas. Uma das áreas foi imersa na solução controle, contendo apenas etanol, enquanto a outra foi imersa na solução preparada a partir do óleo essencial diluído em etanol.

Os discos de folhas permaneceram sobre papel filtro durante um período de 5 minutos ao ar livre para a secagem e, em seguida, cada disco foi acondicionado em uma arena. Dez fêmeas adultas do ácaro rajado foram liberadas no espaço neutro, no centro de cada disco de folha e as placas-de-petri fechadas. Quinze repetições foram realizadas, totalizando 150 ácaros por tratamento. Eugenol foi utilizado como controle positivo. As concentrações utilizadas para os óleos essenciais variaram de 1×10^{-10} a 60,04 $\mu\text{L/mL}$. 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 (CR_{50s}) foram estimados pela análise de Probit calculados pelo programa estatístico POLO - PC (LeOra 1987). As razões de repelência foram calculadas de acordo com Robertson & Preisler (1992), com seus respectivos intervalos de confiança a 95%, sendo consideradas significativas quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

Atividade Ovicida dos Óleos Essenciais. A metodologia utilizada para a atividade ovicida dos óleos essenciais e do eugenol foi a de fumigação, adaptada de Araújo *et al.* (2010). Recipientes de vidro com capacidade de 2,5 L foram usados como câmaras de fumigação. Ovos de *T. urticae* em discos de folhas de feijão-de-porco de 2,5 cm de diâmetro foram expostos aos óleos essenciais. Para a obtenção dos ovos, oito fêmeas adultas do ácaro rajado foram transferidas para discos de folhas de feijão-de-porco de 2,5 cm.

Após um período de 12 h, todas as fêmeas foram removidas das folhas e os ovos contados, de forma que permanecessem apenas 30 ovos por disco de folha. Para manter a turgescência das folhas, estas foram mantidas sobre discos de papel filtro saturados com água destilada em placas-

de-petri (8 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura). Os experimentos foram realizados em triplicata. Uma replicata consistiu de 90 ovos de *T. urticae* colocados em três discos de folhas (30 ovos por disco) em uma placa-de-petri, totalizando 270 ovos por tratamento. Os óleos essenciais foram aplicados com pipeta automática em um pedaço de papel filtro (5 x 3 cm) preso na tampa da câmara de fumigação.

As concentrações dos óleos utilizadas nos experimentos variaram de $8,0 \times 10^{-6}$ a $1,8 \mu\text{L/L}$ de ar e o controle positivo, eugenol, variou de $4,0 \times 10^{-4}$ a $1,6 \mu\text{L/L}$ de ar. Os recipientes do controle não continham óleo essencial ou outros produtos. A viabilidade dos ovos foi determinada após a eclosão das larvas, que ocorreu em até 96 h após a montagem dos bioensaios. Após a exposição, as placas-de-petri foram removidas das câmaras de fumigação e o número de larvas eclodidas e ovos inviáveis contados para determinar a viabilidade dos ovos. Os dados de viabilidade foram submetidos à análise de variância, com as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) usando o Software Statistical Analysis System (SAS Institute 2002). Os mesmos dados também foram analisados com o modelo de Probit usando o Software POLO-PC para a determinação dos valores das CL_{50} , com 95% de intervalo de confiança em todos os experimentos (LeOra 1987). A metodologia de Robertson & Preisler (1992) foi usada para calcular a razão de toxicidade com intervalo de confiança a 95%. As razões de toxicidade foram consideradas significativas quando os intervalos de confiança não incluíam o valor 1,0.

Atividade Fumigante dos Óleos Essenciais sobre *T. urticae* e *N. californicus*. Os testes de fumigação com o ácaro rajado foram realizados como descrito por Araújo *et al.* (2010). Câmaras de fumigação foram constituídas por recipientes de vidro com capacidade para 2,5 L. Para os bioensaios foram utilizadas placas-de-petri (8 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura) contendo um disco de papel filtro umedecido com água destilada sobre o qual foram colocados três discos de folhas de feijão-de-porco com 2,5cm de diâmetro cada. Para cada disco de folha foram

transferidas 10 fêmeas adultas do ácaro rajado e cada placa-de-petri, contendo 30 ácaros, foi colocada em uma câmara de fumigação.

A metodologia de fumigação para o ácaro predador foi a mesma utilizada para o ácaro rajado, com modificações. Cada placa-de-petri foi constituída por um disco de espuma de polietileno umedecida com água destilada sob o disco de papel filtro. Ácaro rajado e pólen de mamona foram fornecidos como fonte de alimento para *N. californicus*.

Para ambas as espécies de ácaros, os óleos essenciais ou seus compostos isolados foram aplicados com pipetas automáticas em tiras de papel filtro (5 x 3 cm) presas à superfície interna das câmaras de fumigação. Para *T. urticae*, as concentrações utilizadas dos óleos essenciais variaram de $2,0 \times 10^{-4}$ a $4,0 \mu\text{L/L}$ de ar, enquanto para os compostos isolados as concentrações foram entre $2,0 \times 10^{-4}$ e $16,0 \mu\text{L/L}$ de ar. Com o intuito de verificar a seletividade dos óleos essenciais sobre *N. californicus*, as concentrações utilizadas para o ácaro predador foram equivalentes àquelas que promoveram acima de 95% de mortalidade para cada óleo essencial nos testes com *T. urticae*.

Diclorometano foi utilizado para a diluição dos óleos e seus constituintes. No controle foi aplicado apenas diclorometano. Como controle positivo foi utilizado eugenol, em concentrações que variaram entre $6,4 \times 10^{-5}$ e $1,2 \mu\text{L/L}$ de ar. Para cada tratamento foram realizadas três repetições, sendo cada repetição constituída por uma câmara de fumigação contendo 30 ácaros. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado.

Após um período de exposição de 24h foram realizadas as avaliações, onde foram considerados mortos 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 (número 00). Os dados de mortalidade de *T. urticae* obtidos para os óleos essenciais e os constituintes químicos isolados foram submetidos à análise de Probit e as CL_{50} estimadas utilizando-se o programa

POLO - PC (LeOra 1987). As razões de toxicidade foram calculadas segundo a metodologia de Robertson & Preisler (1992), com seus intervalos de confiança a 95%, sendo consideradas significativas quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

Os dados obtidos para mortalidade do ácaro predador 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).

Efeito Residual dos Óleos Essenciais sobre *T. urticae* e *N. californicus*. Os testes de efeito residual foram realizados de acordo com metodologia estabelecida por Miresmailli *et al.* (2006). O método de “pincelagem” em disco de folha foi utilizado para avaliar a toxicidade residual dos óleos essenciais e dos constituintes químicos isolados. O eugenol foi usado como controle positivo natural. Para os experimentos foram utilizados discos de folha de feijão-de-porco de 2,5 cm de diâmetro. As concentrações dos óleos essenciais e dos constituintes químicos utilizadas variaram de 0,1 a 150,0 e 0,1 a 800,0 µL/mL, respectivamente. Para o eugenol foram utilizadas concentrações entre 1 e 25 µL/mL. As concentrações testadas dos óleos essenciais sobre o ácaro predador foram as mesmas que promoveram acima de 95% de mortalidade para cada óleo essencial nos testes com *T. urticae*.

As soluções contendo os óleos essenciais ou os constituintes químicos foram preparadas pela diluição dos óleos essenciais ou constituintes em água destilada utilizando Tween 20 (0,1%) como dispersante. Os discos controle foram tratados apenas com água contendo o dispersante. Para cada tratamento, uma alíquota de 20 µL da solução foi colocada com uma pipeta automática sobre um disco de folha e espalhada com o auxílio de um bastão de vidro. Após secar em temperatura ambiente, cada disco de folha foi transferido para uma placa-de-petri (10 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura) sobre um disco de papel filtro umedecido com água destilada. Cinco

fêmeas adultas do ácaro rajado ou do predador foram transferidas para cada disco de folha e as placas-de-petri fechadas.

Após 24h de exposição foi determinada a mortalidade para ambas as espécies de ácaros, considerando-se mortos quando, após um leve toque com a extremidade de um pincel de cerdas finas (número 00), foram incapazes de se deslocar por uma distância superior ao comprimento do seu corpo. Todos os tratamentos foram repetidos cinco vezes. Para as análises estatísticas, os dados obtidos para a mortalidade de *T. urticae* foram submetidos à análise de Probit e as concentrações que matam 50% da população (CL_{50s}) foram 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 considerada significativa quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

Os dados obtidos para mortalidade do ácaro predador 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).

Toxicidade Comparativa dos Constituintes Químicos Individuais dos Óleos Essenciais e suas Misturas sobre *Tetranychus urticae*. Com o objetivo de verificar o papel de mono, sesquiterpenos e fenilpropanoides na toxicidade apresentada para os óleos essenciais investigados nesse trabalho sobre o ácaro rajado, a informação da composição química dos óleos essenciais das espécies *L. gracilis* (alecrim da chapada), *C. aurantium* (lima-da-pérsia), *C. sinensis* Osbeck x *reticulata* Blanco (tangerina murcot) e *T. vulgaris* (tomilho), foram obtidas a partir do Banco de Dados de Composição Química de Óleos Essenciais de Plantas Aromáticas e Condimentares Nativas ou Cultivadas no Nordeste Brasileiro, do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos – UFRPE, para seleção dos constituintes principais dos óleos dessas plantas a serem investigados quanto a sua toxicidade frente ao ácaro rajado.

O mesmo procedimento experimental utilizado para avaliar as atividades fumigante e residual dos óleos essenciais foi empregado para os compostos individuais e suas misturas. A CL₅₀ foi estimada para todos os constituintes selecionados. Para se determinar o nível de contribuição de cada um dos componentes na toxicidade observada para os óleos essenciais foram preparadas, a partir dos constituintes previamente selecionados, misturas completas e misturas incompletas removendo um constituinte por vez da mistura completa.

A proporção (% relativa) entre os constituintes selecionados na preparação de cada uma das misturas foi a mesma encontrada para cada um dos constituintes identificados por cromatografia Gasosa/Espectrometria de massas dos óleos de tomilho (timol: 69,11%, α -humuleno: 4,31%, *p*-cimeno: 1,77% e β -pineno: 0,35%), alecrim da chapada (carvacrol: 61,40%, *p*-cimeno: 11,49%, safrol: 11,05%, D-Limoneno: 0,92%, β -Pineno: 0,55%, Terpinoleno: 0,29%, 1,8-cineol: 0,27% e β -Cariofileno: 0,17%), lima-da-pérsia (Linalol: 25,58%, Mentol: 19,14%, Geraniol: 2,49%, Terpinoleno: 1,78%, D-Limoneno: 1,19% e Nerolidol: 0,28%) e tangerina murcot (Linalol: 29,96%, Terpinoleno: 7,40%, Terpinen-4-ol: 5,63%, Timol: 1,10%, Mentol: 1,08%, D-Limoneno: 0,60% e *p*-Cimeno: 0,18%). As atividades fumigante e residual das misturas foram avaliadas nas concentrações em que os óleos promoveram mortalidades acima de 95%. Os dados obtidos foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (SAS Institute 2002).

Atividade de Contato dos Óleos Essenciais sobre *Tetranychus urticae* em Casa de Vegetação.

A metodologia utilizada para os testes de contato com óleos essenciais sobre *T. urticae* em casa de vegetação foi adaptada de Miresmailli & Isman (2006). Plantas de feijão-de-porco com duas folhas e 25 dias de idade foram utilizadas nos experimentos. Para cada folha foram transferidas 15 fêmeas adultas de *T. urticae*, totalizando 30 ácaros por planta. Após um período de 72 h, 5 mL de cada solução foi pulverizado sobre uma planta contendo os ácaros.

As soluções aquosas foram preparadas a 1% do óleo essencial e 0,1% de dispersante (Tween 20). Como controle positivo foi utilizado o eugenol na mesma concentração utilizada para os óleos essenciais. Os discos controle foram tratados apenas com água destilada e dispersante. Foram realizadas três repetições, sendo cada repetição uma planta de feijão-de-porco contendo 30 ácaros, totalizando 90 ácaros por tratamento. As avaliações foram realizadas 24, 48 e 72 h após a pulverização, onde foram contados os números de ácaros vivos e mortos. Os dados de mortalidade 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).

Resultados e Discussão

Atividade Repelente dos Óleos Essenciais sobre *Tetranychus urticae*. A Tabela 2 apresenta as CR_{50} estimadas para os óleos essenciais de manjericão, tomilho, tangerina murcot, alecrim, erva-cidreira, tangerina cravo, laranja mimoso, lima-da-pérsia e alecrim da chapada. Todos os óleos essenciais apresentaram forte atividade repelente. A menor concentração entre os óleos que promoveu repelência acima de 85% foi de $1,0 \times 10^{-10}$ $\mu\text{L}/\text{mL}$ (96,0% de repelência) para o óleo de manjericão. O óleo de alecrim da chapada, entre todos os óleos essenciais, necessitou da maior concentração (60,04 $\mu\text{L}/\text{mL}$) para repelir 86,7% dos ácaros. Já o controle positivo, eugenol, promoveu 85,0% de repelência dos ácaros na concentração de 10,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

De acordo com os valores das CR_{50} estimadas, resultados promissores foram obtidos para os óleos de manjericão, tomilho e tangerina murcot onde suas ações repelentes, embora tenham diferido significativamente entre si, foram significativamente mais repelentes do que o eugenol, com destaque para o óleo de manjericão, que foi cerca de 705; 9.120 e 67.700 vezes mais repelente do que os óleos de tomilho (CR_{50} de $2,0 \times 10^{-4}$ $\mu\text{L}/\text{mL}$), tangerina murcot e o eugenol, respectivamente (Tabela 2). Os níveis de repelência observados para os óleos de alecrim e erva-

cidreira foram similares ao do eugenol, por outro lado, o eugenol foi cerca de 13,33 vezes mais repelente do que o óleo de tangerina cravo e laranja mimoso e 20 vezes mais repelente do que o óleo da lima-da-pérsia.

Entre as espécies de *Citrus* investigadas nesse trabalho, apenas os óleos de lima-da-pérsia e laranja mimoso foram investigados previamente com relação à ação repelente sobre o ácaro rajado. Araújo *et al.* (2010) não estimaram os valores das CR_{50} para os óleos das cascas de lima-da-pérsia e laranja mimoso, mas mostraram que eles foram repelentes nas concentrações de 2,0 e 2,5%, respectivamente.

Estes resultados são promissores para o controle dessa praga. A alta atividade repelente observada principalmente para os óleos de manjeriço, tomilho e tangerina murcott, que foram mais repelentes do que o controle positivo, indicam que estes óleos podem ser usados como alternativa no manejo do ácaro rajado.

Atividade Ovicida dos Óleos Essenciais. A Tabela 3 apresenta a toxicidade dos óleos essenciais sobre ovos do ácaro rajado, onde pode ser observado que todos os óleos testados apresentaram atividade ovicida, variando de acordo com a concentração e espécie vegetal utilizada. Com base na toxicidade do eugenol, as toxicidades observadas para os óleos testados foram classificadas como muito forte (tomilho [$CL_{50} = 0,002 \mu\text{L/L}$ de ar], alecrim [$CL_{50} = 0,002 \mu\text{L/L}$ de ar], tangerina cravo [$CL_{50} = 0,002 \mu\text{L/L}$ de ar] e manjeriço [$CL_{50} = 0,004 \mu\text{L/L}$ de ar]); forte (tangerina murcott [$CL_{50} = 0,11 \mu\text{L/L}$ de ar]) e moderada (lima-da-pérsia [$CL_{50} = 0,30 \mu\text{L/L}$ de ar], alecrim da chapada [$CL_{50} = 0,32 \mu\text{L/L}$ de ar], laranja mimoso [$CL_{50} = 0,49 \mu\text{L/L}$ de ar] e erva-cidreira [$CL_{50} = 0,64 \mu\text{L/L}$ de ar]).

Os intervalos de confiança para as CL_{50} estimadas para os óleos que apresentaram toxicidade muito forte se sobrepõem, mas diferiram significativamente do controle positivo, enquanto que as toxicidades apresentadas para o óleo de tangerina murcott e o controle positivo

não diferiram significativamente. Os óleos de tomilho, alecrim e tangerina cravo foram cerca de 20,0 vezes mais tóxicos aos ovos de *T. urticae* do que o eugenol, enquanto que o óleo de manjerição foi 10,0 vezes mais tóxico.

Entre os óleos classificados no grupo com ação ovicida moderada, os óleos de lima-da-pérsia e alecrim da chapada apresentaram atividades similares, mas diferiram significativamente das apresentadas para os óleos de laranja mimo e erva-cidreira. Por outro lado, a ação ovicida destes óleos diferiu significativamente da observada para o eugenol, que foi cerca de 7,5; 8,0; 12;3 e 16,0 vezes mais tóxico do que os óleos de lima-da-pérsia, alecrim da chapada, laranja mimo e erva-cidreira, respectivamente.

As Figuras 1, 2 e 3 apresentam os percentuais de viabilidade de ovos submetidos aos óleos essenciais e ao eugenol. Quando comparados os efeitos de todos os óleos essenciais com o eugenol, o óleo de tomilho foi o que revelou melhor resultado, inviabilizando 98,52 % de ovos na menor concentração utilizada ($2,0 \times 10^{-1}$ $\mu\text{L/L}$ de ar), enquanto que o eugenol inviabilizou 90,55% dos ovos a 1,6 $\mu\text{L/L}$ de ar. Além disso, a menor concentração do eugenol que promoveu toxicidade significativamente diferente do controle foi $4,0 \times 10^{-2}$ $\mu\text{L/L}$ de ar, enquanto para o óleo de tomilho essa concentração foi 200 vezes menor.

Nenhum relato foi encontrado na literatura sobre o efeito fumigante dos óleos essenciais das 9 espécies investigadas nesse trabalho sobre ovos de *T. urticae*. Entretanto, resultados da ação ovicida utilizando óleos essenciais de outras espécies vegetais têm sido reportados na literatura. Choi *et al.* (2004) mostraram que os óleos essenciais de *Cymbopogon nardus* G. (citronela de Java), *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto), *Mentha pulegium* L. (poejo) e *Mentha spicata* L. (hortelã) promoveram 100% de mortalidade de ovos de *T. urticae* na concentração de $9,3 \times 10^{-3}$ $\mu\text{L/mL}$ de ar. Comparando estes resultados com os encontrados nesse trabalho, os óleos de

tomilho, alecrim e tangerina cravo foram mais tóxicos, promovendo médias de mortalidades de 98,5%; 95,0% e 95,0% nas concentrações de 0,32; 0,60 e 0,36 $\mu\text{L/L}$ de ar, respectivamente.

O potencial ovicida observado nessa pesquisa sugere que os óleos das espécies *R. officinalis*, *T. vulgaris*, *O. basilicum*, *C. aurantium*, *C. reticulata*, *C. sinensis*, *C. sinensis* x *reticulata*, *L. gracilis* e *L. alba* podem ser usados no controle do ácaro rajado, especialmente os óleos de tomilho, alecrim, manjerição e tangerina cravo, que foram muito mais tóxicos do que o eugenol, usado como controle positivo.

Atividade Fumigante dos Óleos Essenciais sobre *Tetranychus urticae* e *Neoseiulus californicus*.

Família Lamiaceae. Todos os óleos testados dessa família apresentaram toxicidade sobre adultos do ácaro rajado. Entre os óleos testados, a menor concentração usada para promover mortalidade acima de 95% foi para o óleo de manjerição (0,29 $\mu\text{L/L}$ de ar / 98,9% de mortalidade), seguido por tomilho (0,32 $\mu\text{L/L}$ de ar / 95,0%) e alecrim (1,60 $\mu\text{L/L}$ de ar / 95,5% de mortalidade). O eugenol promoveu 97,8% de mortalidade a 1,20 $\mu\text{L/L}$ de ar.

Para se comparar as toxicidades relativas apresentadas pelos óleos e o controle positivo, análises de regressão linear foram feitas para a obtenção das concentrações letais médias (CL_{50}). A Tabela 4 apresenta os resultados das CL_{50} estimadas para a fumigação dos óleos essenciais. Os óleos de tomilho e manjerição foram igualmente tóxicos (CL_{50} de 0,02 $\mu\text{L/L}$ de ar), sendo 38,5 vezes mais tóxicos do que o óleo de alecrim (CL_{50} de 0,77 $\mu\text{L/L}$ de ar). A ação fumigante do eugenol (CL_{50} de 0,004 $\mu\text{L/L}$ de ar) foi apenas 5,77 e 6,25 vezes mais tóxica do que os óleos de tomilho e manjerição, respectivamente (Tabela 4). Quando comparados os valores dos coeficientes angulares das curvas de concentração-mortalidade obtidos para os três óleos, o óleo de alecrim apresentou o maior valor (4,07), indicando um elevado grau de sensibilidade e correlação entre a mortalidade e a concentração do óleo.

A avaliação dos óleos essenciais de manjeriço, alecrim e tomilho sobre o ácaro predador, *N. californicus*, por meio de fumigação revelou que esses óleos foram seletivos (Tabela 5). Comparando as seletividades desses óleos, a média de mortalidade de *N. californicus* promovida pelo óleo de tomilho ($21,15\% \pm 2,9$) foi significativamente maior ($F = 63,10$; $gl = 10$; $P < 0,0001$) do que as médias de mortalidades obtidas para o óleo de manjeriço ($2,23\% \pm 1,1$) e alecrim ($4,44\% \pm 1,1$). Por outro lado, o controle positivo, eugenol, foi menos seletivo do que os óleos de manjeriço, alecrim e tomilho, promovendo mortalidade de $31,02\% \pm 1,7$ de *N. californicus* ($F = 63,10$; $gl = 10$; $P < 0,0001$).

Os resultados obtidos nesse trabalho para a toxicidade dos óleos de tomilho e manjeriço sobre o predador estão de acordo com os reportados por Han *et al.* (2010) para esses mesmos óleos, indicando que tomilho é o óleo menos seletivo. No entanto, os óleos comerciais utilizados pelos autores apresentaram toxicidades inferiores comparados com os nossos resultados.

A toxicidade sobre *T. urticae* observada por Aslan *et al.* (2004) para óleos essenciais de tomilho e manjeriço cultivados na Turquia, apresentaram menores toxicidades do que os resultados obtidos nesse trabalho para os óleos de tomilho e manjeriço. Em outro estudo, os percentuais de mortalidades promovidos para os óleos comerciais de alecrim, tomilho e manjeriço na concentração de $19 \times 10^{-3} \mu\text{L/mL}$ de ar foram 70,0%, 93,0% e 88,0%, respectivamente (Choi *et al.* 2004). Estes resultados comparados com os obtidos nesse trabalho sugerem que as concentrações usadas para os óleos dessas mesmas espécies que promoveram mortalidades $\geq 95\%$ foram 11,9; 59,4; e 65,5 vezes menores do que a concentração reportada por Choi *et al.* (2004) indicando que os óleos essenciais das plantas cultivadas em Pernambuco foram mais tóxicos.

Família Rutaceae. O óleo que promoveu mortalidade acima de 95% na menor concentração testada foi o de tangerina cravo (97,78% de mortalidade em 0,4 $\mu\text{L/L}$ de ar), seguido de laranja mimo (97,89% de mortalidade em 0,6 $\mu\text{L/L}$ de ar), lima-da-pérsia (95,56% de mortalidade em 2,0

$\mu\text{L/L}$ de ar) e tangerina murcot (95,51% de mortalidade em 4,0 $\mu\text{L/L}$ de ar). Enquanto os óleos de tangerina cravo e laranja mimo a 0,6 $\mu\text{L/L}$ de promoveram mortalidades acima de 97,0%, o eugenol só atingiu esse nível de mortalidade com o dobro da concentração usada para estes óleos.

Os resultados das análises de regressão linear para a toxicidade dos óleos de *Citrus* revelaram que o óleo de tangerina cravo foi o mais tóxico seguido de laranja mimo (CL_{50} de 0,01 e 0,12 $\mu\text{L/L}$ de ar, respectivamente). Entretanto, observou-se que os intervalos de confiança das CL_{50} estimadas para os óleos de lima-da-pérsia ($CL_{50} = 1,05 \mu\text{L/L}$ de ar) e tangerina murcot ($CL_{50} = 1,63 \mu\text{L/L}$ de ar) se sobrepõem e que estes óleos foram os que apresentaram as menores toxicidades (Tabela 4). Comparando as toxicidades do controle positivo com o melhor resultado obtido para os óleos de *Citrus*, o eugenol foi 3,88 vezes mais tóxico do que o óleo de tangerina cravo.

Os valores dos coeficientes angulares das curvas de concentração-mortalidade para os óleos de *Citrus* indicam que o óleo de lima-da-pérsia, um dos menos tóxicos, apresenta o maior grau de correlação entre a mortalidade e a concentração do óleo. As diferenças entre as toxicidades obtidas para óleos pertencentes a espécies do mesmo gênero podem ser devidas às diferenças qualitativas e quantitativas na composição química de cada óleo (Pontes *et al.* 2007, Neves & Camara 2011).

A seletividade dos óleos de *Citrus* também foi avaliada sobre *N. californicus*. Os óleos de lima-da-pérsia, laranja mimo e tangerina murcot foram os mais seletivos promovendo 0,0% ($\pm 0,0$); 2,22% ($\pm 1,1$) e 4,44% ($\pm 1,1$) de mortalidade, respectivamente. Por outro lado, o óleo de tangerina cravo foi o que apresentou menor seletividade ao ácaro predador (20,71% $\pm 0,4$ de mortalidade). Mesmo assim, comparando as seletividades obtidas para os óleos de *Citrus* com o eugenol, observou-se que eugenol foi significativamente ($F = 63,10$; $gl = 10$; $P < 0,0001$) menos seletivo, apresentando 31,02% $\pm 1,7$ de mortalidade (Tabela 5).

Nenhum trabalho foi encontrado na literatura reportando a ação fumigante do óleo das folhas de tangerina murcot sobre o ácaro rajado. No entanto, a toxicidade por fumigação sobre essa praga

tem sido previamente investigada para os óleos da lima-da-pérsia, laranja mimo e tangerina cravo. Choi *et al.* (2004) observaram que a ação fumigante dos óleos comerciais de lima-da-pérsia, laranja mimo e tangerina cravo promoveram mortalidades menores do que 70% na concentração de $19 \times 10^{-3} \mu\text{L/mL}$ de ar. Estes resultados são inferiores aos obtidos nesse trabalho para as espécies de *Citrus*. Comparando os valores das CL_{50} estimadas para a ação fumigante dos óleos essenciais das cascas das laranjas lima e mimo reportados por Araújo *et al.* (2010) com os obtidos nesse trabalho para os óleos das folhas dessas mesmas espécies, observou-se que os óleos das folhas foram 1,55 e 18,5 vezes mais ativos do que os óleos das cascas. Essas diferenças na toxicidade entre os óleos de diferentes partes planta da mesma espécie podem ser justificadas pela diferença na composição química desses óleos, provenientes da variabilidade na produção e acúmulo de substâncias químicas em diferentes órgãos da planta.

Família Verbenaceae. Os dois óleos essenciais de *Lippia* apresentaram a mesma toxicidade fumigante. Porém, a menor concentração usada para o óleo de erva-cidreira que promoveu mortalidade maior do que 95,0% foi três vezes menor ($0,4 \mu\text{L/L}$ de ar causou 98,8% de mortalidade) do que a usada para o óleo do alecrim da chapada ($1,2 \mu\text{L/L}$ de ar matou 95,56%). Para o eugenol, essa concentração foi a mesma usada para o óleo do alecrim da chapada.

A Tabela 4 apresenta os resultados das análises de regressão linear realizadas para os óleos de erva-cidreira e alecrim da chapada. O maior grau de correlação entre a mortalidade e a concentração do óleo foi observado para erva-cidreira, que apresentou o maior valor do coeficiente angular (1,67) da curva de concentração-mortalidade. No entanto, ambos os óleos apresentaram mesmo nível de toxicidade, com valores da CL_{50} estimados em $0,06 \mu\text{L/L}$ de ar. Comparando as toxicidades destes óleos com a do eugenol, este foi 15,26 e 17,60 vezes mais tóxico do que os óleos de erva-cidreira e alecrim da chapada, respectivamente.

Testes com estes óleos sobre o ácaro predador revelaram que os óleos de erva-cidreira e alecrim da chapada foram igualmente seletivos, com médias de mortalidades de 4,4 ($\pm 1,1$) e 4,5% ($\pm 1,1$), respectivamente (Tabela 5). As médias de mortalidades apresentadas para os óleos de erva-cidreira e alecrim da chapada sobre o ácaro predador diferiram significativamente ($F = 63,10$; $gl = 10$; $P < 0,0001$) da mortalidade promovida pelo eugenol ($31,02\% \pm 1,7$), indicando para estes óleos grande potencial de uso para o manejo integrado do ácaro rajado.

Efeito Residual dos Óleos Essenciais sobre *Tetranychus urticae* e *Neoseiulus californicus*. Os óleos essenciais de todas as famílias vegetais estudadas apresentaram toxicidade residual sobre *T. urticae* (Tabela 6).

Família Lamiaceae. Entre as três espécies estudadas, a que promoveu mortalidade acima de 95% na menor concentração foi alecrim, com 96,0% de mortalidade em 120 $\mu\text{L}/\text{mL}$, seguido de tomilho e manjerição (130 e 150 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivamente e 95,8% de mortalidade). O eugenol promoveu 96% de mortalidade dos ácaros a uma concentração de 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Para a comparação entre as toxicidades relativas promovidas pelos óleos e o eugenol foram realizadas análises de regressão linear para a obtenção dos valores das CL_{50} e as toxicidades relativas foram comparadas com o eugenol como controle positivo natural. A Tabela 6 apresenta os resultados das CL_{50} estimadas para todos os óleos essenciais e o controle positivo. Nenhuma diferença foi observada entre as atividades dos óleos de tomilho, manjerição e alecrim (CL_{50} de 16,86; 19,45 e 21,10 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivamente). O eugenol foi apenas 1,91; 2,26 e 2,40 vezes mais tóxico do que os óleos de tomilho, manjerição e alecrim, respectivamente.

A seletividade dos óleos essenciais das espécies de Lamiaceae sobre *N. californicus* avaliada por meio de efeito residual revelou que os óleos de alecrim e manjerição apresentam forte seletividade, com 8,20 ($\pm 1,4$) e 4,80% ($\pm 1,2$) de médias de mortalidade, respectivamente. No entanto, as médias de mortalidade dos óleos de alecrim e manjerição diferiram significativamente

da observada para o óleo de tomilho, que se mostrou tóxico ao ácaro predador, com 83,80% ($\pm 2,3$) de mortalidade ($F = 87,97$; $gl = 10$; $P < 0,0001$). Resultado semelhante a esse obtido para o tomilho foi observado para o eugenol. As médias de mortalidade promovidas pelo óleo de tomilho e eugenol não diferiram significativamente (Tabela 5).

Investigação prévia da ação residual do óleo de alecrim sobre o ácaro rajado e outra espécie de Phytoseiidae, *Phytoseiulus persimilis* foi realizada. Os resultados obtidos por Miresmailli *et al.* (2006) para a ação residual sobre o ácaro rajado foi 2,11 vezes mais tóxico do que o encontrado para o óleo de alecrim reportado nesse estudo. No entanto, ao contrário da seletividade observada para o óleo de alecrim sobre *N. californicus*, investigada nesse trabalho, a avaliação da ação residual do óleo de alecrim comercial testado por Miresmailli & Isman (2006) sobre o ácaro predador, *P. persimilis* revelou toxicidade no mesmo nível obtido para o ácaro rajado.

Os resultados obtidos para ação residual dos óleos de alecrim e manjerição sobre o ácaro rajado e seu predador natural mostraram forte toxicidade a essa praga e maior seletividade sobre o predador do que o controle positivo eugenol, facultando o uso desses óleos para o manejo integrado de *T. urticae*.

Família Rutaceae. A menor concentração que promoveu mortalidade acima de 95% foi de 50 $\mu\text{L/mL}$, para o óleo de tangerina cravo (96,0% de mortalidade). Os óleos de tangerina murcot e laranja mimo, na mesma concentração (130 $\mu\text{L/mL}$), causaram 96,0 e 98,0% de mortalidade dos ácaros, respectivamente. Por outro lado, o óleo de lima-da-pérsia promoveu 96% de mortalidade em 150 $\mu\text{L/mL}$.

A Tabela 6 mostra as toxicidades dos óleos de *Citrus* e do eugenol. A maior toxicidade residual foi observada para o óleo de tangerina cravo (CL_{50} de 9,70 $\mu\text{L/mL}$), sendo cerca de 4,0, 4,5 e 4,7 vezes mais tóxico do que os óleos de laranja mimo, lima-da-pérsia e tangerina murcot, respectivamente. Para os óleos de laranja mimo, lima-da-pérsia e tangerina murcot, os intervalos de

confiança das CL_{50} estimadas se sobrepõem (CL_{50} de 39,53; 43,84 e 45,49 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivamente) sugerindo a mesma toxicidade para estes óleos. Apenas o óleo de tangerina cravo apresentou toxicidade no mesmo nível observado para o eugenol.

O maior valor do coeficiente angular da curva de concentração-mortalidade obtido para o óleo de tangerina murcot indica um elevado grau de correlação entre a mortalidade e a concentração do produto.

Todos os óleos de *Citrus* apresentaram seletividade sobre o ácaro predador por meio de efeito residual. As mortalidades promovidas pelos óleos de tangerina cravo, lima-da-pérsia, laranja mimo e tangerina murcot foram de 8,0% ($\pm 2,3$); 12,6% ($\pm 0,9$); 20,4% ($\pm 0,9$) e 21,6% ($\pm 1,4$), respectivamente. Comparando esses resultados com o controle positivo, o eugenol foi o menos seletivo, causando 83,8% de mortalidade ($F = 87,97$; $gl = 10$; $P < 0,0001$). Esses resultados revelam que os quatro óleos essenciais foram significativamente mais seletivos do que o eugenol (Tabela 5).

Família Verbenaceae. A menor concentração utilizada para os óleos das duas espécies de *Lippia* que promoveu mortalidade acima de 95% foi 150 $\mu\text{L}/\text{mL}$, com 96% de mortalidade para as duas espécies. A Tabela 6 mostra os resultados das CL_{50} obtidas para os dois óleos essenciais de *Lippia*. Nenhuma diferença significativa foi observada entre o efeito residual dos óleos das duas espécies (CL_{50} de 21,31 e 29,70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ para erva-cidreira e alecrim da chapada, respectivamente). No entanto, o eugenol foi 2,46 e 3,46 vezes mais tóxico do que os óleos de erva-cidreira e alecrim da chapada, respectivamente.

Nos bioensaios de seletividade dos óleos de *Lippia* sobre *N. californicus*, o óleo mais seletivo foi o de erva-cidreira (20,0% $\pm 1,2$), enquanto que o óleo de alecrim da chapada foi considerado tóxico com média de mortalidade de 74,0% ($\pm 1,6$) ($F = 87,97$; $gl = 10$; $P < 0,0001$). Comparando estes resultados com os obtidos para o controle positivo, a média de mortalidade do eugenol

(83,8% ± 2,3) diferiu significativamente da média de mortalidade observada para os óleos das duas espécies de *Lippia* (Tabela 5). A investigação da ação residual sobre *T. urticae* e *N. californicus* para os óleos de *Lippia* indica que estes óleos apresentam potencial para serem usados no controle dessa praga.

Os resultados obtidos até o momento para a ação repelente e atividade tóxica por fumigação e efeito residual de óleos essenciais extraídos das folhas de nove espécies diferentes, pertencentes a cinco gêneros e três famílias botânicas sobre as formas adulta e de ovo do ácaro rajado e seu predador natural, corroboram o grande potencial para o uso de óleos essenciais no controle do ácaro rajado, devido a comprovação da seletividade desses produtos sobre o inimigo natural e suas atividades repelente e tóxica constatadas nesse estudo pela ação dos vapores desses óleos via sistema respiratório e/ou pela ingestão e contaminação através dos tarsos dessa praga.

Esse estudo revelou excelente potencial repelente para alguns óleos testados, que demonstraram maior atividade do que o eugenol, usado como controle positivo natural, como por exemplo, os óleos de manjeriço, tomilho e tangerina murcot. Outros resultados inusitados estão relacionados a ação dos óleos de tomilho, alecrim, tangerina cravo e manjeriço, os quais foram mais tóxicos aos ovos de *T. urticae* do que o eugenol, além da atividade residual observada para os óleos de tangerina cravo, tomilho e manjeriço, que mostraram atividade no mesmo nível obtido para o controle positivo.

De acordo com o exposto acima esses óleos essenciais selecionados para avaliação do potencial acaricida sobre *T. urticae* são constituídos por substâncias bioativas e as propriedades acaricidas dos óleos essenciais das plantas do mesmo gênero ou da mesma espécie podem promover respostas contrárias ao ácaro rajado em decorrência da variabilidade de suas composições químicas. Isso se deve ao fato das diferenças do perfil químico encontradas em óleos

obtidos de espécies do mesmo gênero e até mesmo da mesma espécie, mas extraídos a partir de diferentes órgãos da planta.

Toxicidade Comparativa dos Constituintes Químicos Individuais dos Óleos Essenciais sobre *Tetranychus urticae*. Óleos essenciais são constituídos por misturas complexas, geralmente de mono, sesquiterpenos e fenilpropanóides em diferentes proporções e com grande diversidade estrutural desses grupos de substâncias. A avaliação da toxicidade relativa destes constituintes individualmente permitirá estabelecer a relação atividade-estrutura de constituintes dos óleos com vistas ao aproveitamento dos componentes bioativos, como composto líder para uso em formulações com propriedades acaricidas. Porém, nem sempre a toxicidade de um óleo essencial está associada apenas a atividade individual de seus constituintes, mas também às possíveis interações destes compostos e as proporções em que são encontrados nos óleos.

Para investigar a relação entre a toxicidade dos óleos e seus constituintes químicos, os componentes principais selecionados a partir dos óleos de alecrim da chapada, lima-da-pérsia, tangerina murcot e tomilho e de suas blendas constituídas na mesma proporção destes compostos identificados nos óleos foram avaliados por fumigação e efeito residual sobre o ácaro rajado.

As Tabelas 7 e 8 apresentam as CL_{50} estimadas na toxicidade por fumigação e efeito residual de 15 compostos individuais selecionados a partir dos óleos de alecrim da chapada, lima-da-pérsia, tangerina murcot e tomilho. Entre os constituintes selecionados, o timol (CL_{50} de 0,002 $\mu\text{L/L}$ de ar) e o mentol (CL_{50} de 0,007 $\mu\text{L/L}$ de ar) foram os que apresentaram maior ação fumigante. A toxicidade do timol foi 3,5 vezes maior do que a do mentol. Os intervalos de confiança para os valores das CL_{50} destes constituintes não diferiram significativamente dos intervalos de confiança da CL_{50} estimada para o eugenol.

De acordo com as toxicidades obtidas para os constituintes desses óleos, constatou-se que todos os compostos majoritários identificados nos óleos de alecrim da chapada (carvacrol

[61,4%]), tomilho (timol [69,11%]), lima-da-pérsia e tangerina murcot (Linalol [25,58% e 29,96%, respectivamente]) apresentaram níveis de toxicidade superiores aos respectivos óleos essenciais. De fato, o timol foi 10 vezes mais tóxico do que o óleo de tomilho e o carvacrol foi 1,5 vezes mais tóxico do que o óleo de alecrim da chapada. Já o Linalol foi 2,1 e 1,3 vezes mais tóxico do que os óleos de tangerina murcot e lima-da-pérsia, respectivamente.

Esses dados sugerem que estes constituintes são, entre outros, os que mais contribuem para a toxicidade do óleo. Por outro lado, o mentol e o timol, identificados no óleo de tangerina murcot como compostos minoritários com percentuais relativos de 1,08 e 1,10%, respectivamente, foram 232,8 e 815,0 vezes mais potentes do que o óleo essencial. O mesmo foi observado para os constituintes minoritários, β -Cariofileno (alecrim da chapada [0,17%]) e nerolidol (lima-da-pérsia [0,28%]) que foram 1,2 e 2,7 vezes mais tóxicos dos que os óleos de alecrim da chapada e lima-da-pérsia, respectivamente.

A Tabela 7 apresenta os efeitos residuais sobre o ácaro rajado dos constituintes químicos selecionados a partir dos óleos de alecrim da chapada, lima-da-pérsia, tangerina murcot e tomilho. As toxicidades destes compostos foram comparadas com a do controle positivo natural, eugenol. Os monoterpenos, terpinen-4-ol (CL_{50} de 366,57 $\mu\text{L}/\text{mL}$), terpinoleno (CL_{50} de 341,91 $\mu\text{L}/\text{mL}$) e Linalol (CL_{50} de 138,88 $\mu\text{L}/\text{mL}$) foram os compostos que apresentaram menor efeito residual. Por outro lado, o sesquiterpeno β -Cariofileno (CL_{50} de 0,64 $\mu\text{L}/\text{mL}$) foi o que apresentou maior efeito residual e sua toxicidade foi 13,66 vezes maior do que o eugenol, enquanto o efeito residual obtido para o carvacrol, segundo composto mais ativo (CL_{50} de 10,13 $\mu\text{L}/\text{mL}$) não diferiu significativamente do eugenol.

Ao contrário do observado na ação fumigante, em que se atribuiu aos constituintes majoritários a atividade observada para os óleos essenciais, no efeito residual, os constituintes minoritários identificados no óleo de tangerina murcot, mentol (1,08%) e *p*-cimeno (0,18%)

apresentaram efeito residual no mesmo nível de toxicidade observado para óleo essencial. Já o timol (1,10%), outro componente minoritário foi 1,8 vezes mais tóxico do que o óleo.

Resultados surpreendentes foram obtidos para os compostos minoritários dos óleos de alecrim da chapada (β -Cariofileno [CL₅₀ de 0,64 μ L/mL]) e lima-da-pérsia (nerolidol [CL₅₀ de 15,67 μ L/mL]), os quais foram 46,4 e 2,8 vezes mais tóxicos do que os respectivos óleos em que esses compostos foram identificados. Por outro lado, poucos constituintes, majoritários ou minoritários aqui investigados, apresentaram efeito residual melhor do que o óleo, sugerindo uma possível interação entre estes constituintes e outros não selecionados nesse trabalho para maximizar a atividade observada para o óleo de tomilho.

Estes resultados sugerem que as toxicidades por fumigação e efeito residual dos constituintes principais e minoritários variaram de acordo o tipo de bioensaio utilizado. Os óleos essenciais e os seus constituintes testados individualmente foram mais efetivos através dos bioensaios de fumigação do que por efeito residual.

Este estudo da toxicidade relativa dos constituintes individuais corrobora a hipótese levantada nesse trabalho que a atividade acaricida de um óleo essencial não é necessariamente atribuída apenas à toxicidade dos constituintes principais e que provavelmente as interações entre seus constituintes devem ser levadas em consideração para justificar a atividade obtida para o óleo.

Toxicidade Comparativa das Misturas dos Constituintes Químicos Individuais dos Óleos Essenciais sobre *Tetranychus urticae*. As proporções em que os constituintes químicos são encontrados no óleo essencial podem interferir maximizando ou minimizando a atividade biológica do óleo essencial. O papel na toxicidade de cada um destes compostos foi avaliado através das misturas incompletas, preparadas a partir da mistura completa removendo um dos compostos de cada vez.

Mistura Artificial do Óleo de Alecrim da Chapada. A Figura 4 apresenta as médias de mortalidades por fumigação e efeito residual de *T. urticae* quando submetidos às misturas artificiais completa e incompletas dos constituintes selecionados a partir do óleo de alecrim da chapada. As toxicidades promovidas pela mistura artificial completa constituída por oito compostos representando 86,15% (carvacrol, 61,4%; *p*-cimeno, 11,49%; safrol, 11,06%; D-Limoneno, 0,92%; β -pineno, 0,55%; terpinoleno, 0,29%; 1,8-cineol, 0,27% e β -Cariofileno, 0,17%) do óleo essencial, por meio de fumigação e efeito residual, foram similares à apresentada pelo óleo essencial. Nos bioensaios das misturas incompletas para a ação fumigante, só a remoção do carvacrol causou uma significativa redução na mortalidade ($F = 428,77$; $gl = 10$; $p < 0,0001$) comparada com a mistura completa, enquanto com a remoção de qualquer um dos outros constituintes, a toxicidade não foi alterada, inclusive com a remoção do β -Cariofileno, que individualmente apresentou toxicidade comparada ao carvacrol e ao óleo essencial. Este resultado sugere que o componente principal do óleo, carvacrol, contribui significativamente à toxicidade do óleo por fumigação, e que mesmo o β -Cariofileno, tendo apresentado individualmente forte ação fumigante, sua presença na mistura é dispensável.

Para o efeito residual das misturas incompletas, observou-se, mais uma vez, que o carvacrol foi o que mais contribuiu à toxicidade da mistura completa e que a ausência do β -Cariofileno da mistura não interfere na mortalidade. O safrol testado individualmente apresentou toxicidade por fumigação menor do que a apresentada pelo β -Cariofileno, no entanto, a ausência do safrol na mistura completa promoveu significativa redução na mortalidade de ácaros, sugerindo que o carvacrol e o safrol são os constituintes que mais contribuem à toxicidade da mistura completa e consequentemente do óleo essencial.

Mistura Artificial do Óleo de Lima-da-pérsia. A Figura 5 mostra as médias de mortalidades obtidas para as misturas artificiais completas e incompletas do óleo essencial de lima-da-pérsia por

fumigação e efeito residual. A mistura completa foi constituída por seis compostos representado 50,46% do óleo (Linalol, 25,58%; mentol, 19,14%; geraniol, 2,49%; terpinoleno, 1,78%; D-Limoneno, 1,19% e nerolidol, 0,28%). A média de mortalidade obtida para a mistura completa por meio de fumigação não diferiu significativamente da média de mortalidade observada para o óleo essencial.

Com exceção do mentol, todos os demais constituintes, incluindo o majoritário, Linalol (25,58%), quando removidos da mistura, a mortalidade não diferiu significativamente quando comparados à mistura completa. Nesse caso, o constituinte principal, mesmo tendo apresentado toxicidade individual no mesmo nível de toxicidade observado para o óleo essencial (Tabela 7), sua contribuição à toxicidade da mistura completa não é significativa. No entanto, a remoção do mentol (19,14%) o segundo composto majoritário do óleo, promoveu significativa redução na mortalidade de ácaros, sugerindo que este monoterpene é o que mais contribui à toxicidade obtida para a mistura artificial do óleo.

Para o efeito residual da mistura completa, a toxicidade obtida foi significativamente inferior à observada para o óleo essencial. Estes dados sugerem que a redução na toxicidade observada para a mistura completa é provavelmente devido às interações antagônicas entre seus constituintes. Mesmo a mistura completa não tendo apresentado o mesmo nível de toxicidade do óleo essencial, a Figura 5 mostra que os compostos que mais contribuíram à toxicidade dessa mistura foram os constituintes majoritários (Linalol, mentol) e o geraniol. Com relação a toxicidade individual destes constituintes, o nerolidol foi o que apresentou maior toxicidade comparado ao óleo essencial, seguida do mentol e geraniol.

Curiosamente, as toxicidades obtidas para as misturas incompletas sem o nerolidol ou o terpinoleno sugerem que estes componentes são os principais responsáveis pela baixa toxicidade obtida para a mistura artificial do óleo.

Mistura Artificial do Óleo de Tangerina Murcot. A Figura 6 mostra as médias de mortalidade obtidas para as misturas artificiais completa e incompletas do óleo essencial de tangerina murcot por fumigação e efeito residual. A mistura completa foi constituída por seis compostos representado 45,95% do óleo (Linalol, 29,96%; terpinoleno, 7,4%; terpinen-4-ol, 5,63%; timol, 1,10%; mentol, 1,08%; D-Limoneno, 0,60% e *p*-cimeno, 0,18%). A média de mortalidade obtida para a mistura completa por meio de fumigação não diferiu significativamente da média de mortalidade observada para o óleo essencial.

A forte ação fumigante observada para essa mistura artificial do óleo é decorrente provavelmente de uma interação sinérgica entre os constituintes. Os resultados das toxicidades obtidas para as misturas incompletas indicam que a remoção do constituinte principal, Linalol, promoveu uma drástica redução na mortalidade, diferindo significativamente da mortalidade observada para a mistura artificial do óleo. Resultado semelhante foi obtido pela remoção do mentol, componente minoritário do óleo essencial. Estes resultados corroboram a forte atividade que estes compostos apresentaram quando avaliados individualmente, sugerindo que estes monoterpenos são os que mais contribuem à toxicidade da mistura artificial do óleo de tangerina murcot. No entanto, o resultado obtido para a mistura incompleta pela remoção do timol indica que este composto, que foi 815 vezes mais tóxico do que o óleo essencial, não interferiu na toxicidade da mistura completa do óleo. Resultados semelhantes foram obtidos para as misturas incompletas sem D-Limoneno, *p*-cimeno, terpinen-4-ol e terpinoleno (Fig. 6).

A atividade residual da mistura artificial do óleo de tangerina murcot foi significativamente menor do que a média de mortalidade obtida para o óleo essencial. A redução na mortalidade dessa mistura sugere uma interação antagônica entre os constituintes, uma vez que as atividades do timol, *p*-cimeno e mentol testados individualmente apresentaram o mesmo nível da observada para o óleo essencial. As toxicidades obtidas para as misturas incompletas removendo D-Limoneno, Linalol ou

terpinen-4-ol (Fig. 6) diferiram significativamente da toxicidade da mistura completa, sugerindo que estes constituintes são os que mais contribuem à toxicidade observada para a mistura artificial do óleo.

Mistura Artificial do Óleo de Tomilho. A Figura 7 mostra as médias de mortalidades obtidas para as misturas artificiais completa e incompletas do óleo essencial de tomilho por fumigação e efeito residual. A mistura completa foi constituída por quatro compostos representado 75,54% do óleo (timol, 69,11%; α -humuleno, 4,31%; *p*-cimeno, 1,77% e β -pineno, 0,35%). As médias de mortalidades obtidas para a mistura completa (58,89% de mortalidade) por meio de fumigação diferiu significativamente ($F = 86,83$; $gl = 6$; $p < 0,0001$) da média apresentada para o óleo essencial (95,0% de mortalidade).

Este resultado sugere que os constituintes dessa mistura interagem antagonicamente entre si. Toxicidade apresentada para as misturas incompletas sugerem que o timol, que foi 10 vezes mais tóxico do que o óleo essencial é o que mais contribui à toxicidade obtida para a mistura artificial. Por outro lado, a remoção dos constituintes α -humuleno, β -pineno e *p*-cimeno indica que estes são os que mais contribuem à redução da toxicidade da mistura completa. Resultados diferentes foram obtidos para a mistura completa através do efeito residual. A toxicidade promovida pelo efeito residual da mistura artificial do óleo de tomilho não diferiu significativamente da obtida para o óleo essencial. De acordo com os testes realizados com as misturas incompletas, a remoção do timol foi a única mistura que reduziu drasticamente a média de mortalidade comparada com a mistura completa, enquanto os níveis de toxicidades observados para as misturas incompletas sem o α -humuleno, *p*-cimeno e β -pineno não diferiram significativamente da mistura completa. Estes resultados sugerem que o constituinte principal, timol é o principal constituinte que contribui à toxicidade da mistura artificial do óleo.

Atividade de Contato dos Óleos Essenciais sobre *Tetranychus urticae* em Casa de Vegetação.

A avaliação da ação repelente e toxicidade por fumigação e efeito residual dos óleos essenciais de espécies das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae sobre o ácaro rajado (fases de ovos e adulto) e seu predador natural realizada em laboratório mostrou que muitos dos óleos apresentam excelentes resultados e alguns melhores do que o eugenol, usado como controle positivo. As propriedades observadas para estes óleos os fazem fortes candidatos para serem utilizados em produtos formulados para o manejo integrado dessa praga. No entanto, antes de serem usados, as propriedades destes óleos, muito bem estabelecidas em laboratório, precisam ser reproduzidas em campo e/ou casa de vegetação. Nesse sentido, o potencial acaricida de soluções utilizando óleo essencial de espécies das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae como princípio ativo foi avaliado em casa de vegetação sobre o ácaro rajado. Os dados obtidos foram comparados com o controle positivo natural, eugenol.

Os resultados obtidos para os testes realizados em casa de vegetação com as soluções a 1% dos óleos essenciais nos tempos de 24h, 48h e 72h após o tratamento são apresentados na Figura 8. Todos os óleos essenciais selecionados foram tóxicos ao ácaro rajado após 24h de tratamento. Após este período de exposição, os óleos que promoveram maior toxicidade foram os de tangerina murcot (95,56%) e alecrim (91,66%), seguidos dos óleos das espécies da família Verbenaceae, erva-cidreira ($87,79\% \pm 0,98$) e alecrim da chapada ($82,95\% \pm 0,33$). No entanto, as médias de mortalidades entre os óleos de tangerina murcot e alecrim não diferiram significativamente. O mesmo foi observado para as médias de mortalidades promovidas pelos óleos das espécies da família Verbenaceae. A solução preparada com o óleo de tomilho foi a que revelou menor toxicidade entre os óleos essenciais utilizados, com média de mortalidade de ácaros de 53,25% ($\pm 4,0$), o qual não diferiu estatisticamente da média de mortalidade observada para o eugenol ($49,33\% \pm 1,2$).

Por outro lado, a solução preparada com o óleo de tangerina cravo, cujo óleo essencial apresentou forte toxicidade residual em laboratório, nos testes de contato em casa de vegetação apresentou toxicidade moderada (68,22% \pm 1,7 de mortalidade), não diferindo estatisticamente da atividade apresentada para os óleos de manjerição (69,29% \pm 1,2) e laranja mimo (66,36% \pm 1,4).

Avaliação da toxicidade de contato dos óleos essenciais após 48 h do tratamento revelou que os percentuais de mortalidades aumentaram com o tempo de exposição do ácaro. No entanto, apenas o óleo de tangerina murcot apresentou 100% de mortalidade, diferindo significativamente das soluções preparadas com os óleos de erva-cidreira, alecrim e alecrim da chapada (93,15% \pm 1,1; 92,85% \pm 0,3 e 92,07% \pm 1,8 de mortalidade, respectivamente) ($F = 1303,10$; $gl = 10$; $p < 0,0001$). As soluções que apresentaram toxicidade mediana após 48h do tratamento foram as preparadas com os óleos de tomilho (66,76% \pm 2,1) e laranja mimo (70,18% \pm 1,6). As médias de mortalidades entre essas soluções não diferiram significativamente, mas diferiram do eugenol (55,37% \pm 0,7).

Os melhores resultados obtidos para os testes após 72 h foram para os óleos de tangerina murcot (100% \pm 0,0), alecrim (98,85% \pm 2,0) e alecrim da chapada (96,59% \pm 0,1), no entanto as médias de mortalidades não diferiram significativamente entre si. Por outro lado, a média apresentada para a solução contendo o óleo essencial de erva-cidreira (95,60% \pm 1,3) não diferiu significativamente daquelas preparadas com os óleos de alecrim e alecrim da chapada. Já as soluções com os óleos de tangerina cravo, lima-da-pérsia e manjerição promoveram mortalidades médias de 84,11% (\pm 0,8); 83,76% (\pm 1,3) e 82,93% (\pm 0,7), não diferindo significativamente entre si. O óleo que apresentou a menor média de mortalidade foi o de tomilho (69,66% \pm 2,1), seguido de laranja mimo (77,23% \pm 1,1). Comparando estes resultados com o eugenol, todas as soluções contendo os óleos essenciais testadas nesse trabalho apresentaram maior toxicidade.

Formulações com o óleo de alecrim a 5% (Hexacide), 10% (EcoTrol) e 17,6% (Sporan) foram avaliadas em experimentos em casa de vegetação sobre *T. urticae* (Miresmailli & Isman

2006). Após 24h de aplicação destas formulações, as médias de mortalidade dos ácaros foram 55%, 75% e 70% para Hexacide, EcoTrol e Sporan, respectivamente. Os resultados obtidos para a solução a 1% do óleo essencial de alecrim no presente estudo foram melhores quando comparados com os produtos Hexacide, EcoTrol e Sporan avaliados por Miresmailli & Isman (2006). As outras soluções contendo os óleos essenciais das espécies das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae em casa de vegetação, com exceção daquela preparada com o óleo de tomilho, também apresentaram médias de mortalidades superiores aos produtos testados por Miresmailli & Isman (2006).

Além dos excelentes resultados de toxicidade sobre o ácaro rajado obtido para as soluções com estes óleos essenciais, nenhum dano nas folhas (onde as soluções foram aplicadas), como sinais de queimaduras, ressecamento, etc, foi observado durante e após a aplicação no período de 72h. Estes resultados corroboram a possibilidade do uso destes produtos baseados em óleos essenciais como uma fonte alternativa aos produtos acaricidas convencionais para o controle de pragas, sugerindo fortemente que esses óleos essenciais são eficientes e podem ser considerados bons candidatos para uso no controle de *T. urticae* em casa de vegetação.

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que o ácaro rajado é altamente susceptível aos óleos essenciais de todas as espécies vegetais estudadas neste trabalho. Os testes de fumigação revelam que esses óleos podem atuar de forma tóxica, sobre adultos e ovos de *T. urticae*, ou através do seu comportamento como agentes repelentes. Grande potencial repelente pode ser atribuído aos óleos de manjerição, tomilho e tangerina murcot, que apresentam maior ação repelente do que o eugenol.

O alto potencial ovicida por meio de fumigação observado neste estudo pode ser atribuído especialmente aos óleos de tomilho, alecrim, manjerição e tangerina cravo, que são mais tóxicos do que o eugenol. Por outro lado, a ação fumigante sobre fêmeas adultas indica que os óleos de

tomilho, tangerina cravo e manjerição são os mais ativos. Esses resultados indicam que através dos vapores dos óleos estudados, os óleos dessas três espécies apresentam forte potencial para o controle do ácaro, atuando sobre diferentes fases de desenvolvimento. Além disso, o efeito residual dos óleos de tangerina cravo, tomilho e manjerição foi semelhante ao do eugenol, e sua seletividade sobre *N. californicus* mais intensa do que a observada para o eugenol.

As toxicidades relativas por fumigação observadas para os constituintes majoritários individuais identificados nos óleos de alecrim da chapada, tomilho, lima-da-pérsia e tangerina murcot apresentam níveis superiores àqueles observados para os respectivos óleos essenciais, sugerindo que esses constituintes presentes nos óleos em maior quantidade são os responsáveis pela toxicidade do  leo. No entanto, nos testes de efeito residual, nenhum constituinte do óleo de tomilho apresenta atividade maior do que a do óleo, sugerindo que exista uma possível intera o entre os compostos presentes nesse óleo que atuem como sinergistas, contribuindo para a toxicidade do  leo.

Os resultados observados para os constituintes individuais sugerem que a sua toxicidade depende da maneira a qual os ácaros são expostos. De forma geral, sua toxicidade por fumigação é mais eficiente do que por efeito residual. No entanto, fica claro que a toxicidade do óleo depende principalmente das intera es entre seus constituintes e que as proporções nas quais eles se encontram no óleo essencial também podem interferir na sua toxicidade. Este fato é comprovado para o óleo essencial de lima-da-pérsia, no qual as misturas completas de seus constituintes por meio de fumigação apresentam a mesma toxicidade da observada para o óleo natural. Entretanto, a remoção do constituinte mentol reduz significativamente a toxicidade da mistura, sugerindo que esse composto contribui consideravelmente para a toxicidade da mistura.

A alta atividade observada para as soluções preparadas com os óleos essenciais aplicadas em casa de vegetação confirmam a hipótese de que esses óleos podem ser bons candidatos para uso em produtos formulados para o controle de *T. urticae*.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq Proc. Nº 476503/2009-4) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE – APQ Nº 0520-55.01/08), pelo suporte financeiro e bolsa de doutorado à primeira autora Proc. Nº IBPG-0229-5.01/08).

Literatura Citada

- Alkofahi, A., J.K. Rupprecht, J.E. Anderson, J.L. McLaughlin, K.L. Mikolajczak, & B.A. Scott. 1989.** Search for new pesticides from higher plants, p. 25-43. In J.T. Arnason, B.J.R. Philogene & P. Morand (eds.), *Insecticides of plant origin*. Washington, DC, Am. Chem. Soc., 224p.
- Araújo, C.P.Jr., C.A.G. Câmara, I.A. Neves, N.C. Ribeiro, C.A. Gomes, M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three *Citrus* species cultivated in NE Brazil. *Nat. Prod. Commun.* 5: 471-476.
- Aslan, İ., H. Ozbek, O. Çalmaşur & F. ŞahİN. 2004.** Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Ind. Crop Prod.* 19:167-173.
- Beltrão, N.E. de M., F. de B. Melo, G.D. Cardoso & L.S. Severino. 2003.** Mamona: Árvore do conhecimento e sistemas de produção para o semi-árido Brasileiro. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular Técnica 70. <http://www.cnpa.embrapa.br>
- 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). *Biores.Technol.* 101: 829-832.

- Choi, W., S. Lee, H. Park & Y. Ahn. 2004.** Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 97: 553-558.
- Flechtmann, C.A.H. 1983.** Dois ácaros novos para o Eucalipto, com uma lista daqueles já assinalados para esta planta. IPEF 23: 43-46.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. de Baptista, E.B. 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. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Gonçalves, M.E.C., J.V. Oliveira, R. Barros & M.P.L. Lima. 2001.** Extratos aquosos de plantas e o comportamento do ácaro verde da mandioca. Sci. Agric. 58: 475-479.
- Han, J., B. Choi, S. Lee, S.I. Kim & Y. Aha. 2010.** Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and -resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 103: 1293-1298.
- Jemâa, J.M.B., N. Tersim, K.T. Toudert & M.L. Khouja. 2012.** Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. J. Stored Prod. Res. 48: 97-104.
- LeOra Software. 1987.** POLO - PC: a User's Guide to Probit Logit Analysis. LeOra Software, Berkely, CA.
- 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. 90: 2015-2023.
- Miresmailli, S., R. Bradbury & M.B. Isman. 2006.** Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. Pest Manage. Sci. 62: 366-371.
- Monteiro, L.B.** Criação de ácaros fitófagos e predadores: um caso de produção de *Neoseiulus californicus* por produtores de maçã, p. 351-365. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Côrrea-Ferreira & J.M.S. Bento (eds.), Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo, Manole, 635p.
- Moraes, G.J. 2001.** O ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) está se tornando um grave problema em diversas culturas. Rev. Cult. Grandes Culturas 28: 10-12.
- Moraes, G.J. de, J.A. McMurtry, H.A. Denmark & C.B. Campos. 2004.** A revised catalogo f the mite family Phytoseiidae. Zootaxa 434: 494.
- Nerio, L.S., J. Olivero-Verbel & E.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.

- Pereira, A.C.R.L., J.V. de Oliveira, M.G.C. Gondim Junior, C.A.G. da Camara. 2008.** Insecticide activity of essential and fixed oils in *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) in cowpea grains [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. Ciênc. Agrotec. 32: 717-724.
- Pontes, W.J.T., J.C.S. Oliveira, C.A.G. Camara, A.C.H.R. Lopes, M.G.C. Gondim Junior, J.V. Oliveira & M.O.E. Schwartz. 2007.** Composition and acaricidal activity of the resin's essential oil of *P. bahianum* Daly against two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). J. Essent. Oil Res. 19:379-383.
- Ribeiro, N.C., C.A.G. Camara, F.S. Born & H.A.A. Siqueira. 2010.** Insecticidal activity against *Bemisia tabaci* biotype B of peel essential oil of *Citrus sinensis* var. pear and *Citrus aurantium* cultivated in northeast Brazil. Nat. Prod. Commun.5: 1819-1822.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. California, CRC Press, 127p.
- SAS Institute. 2002.** SAS user's guide: Statistics, version 9.0, 7th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Zapata, N. & G. Smaghe. 2010.** Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. Indian Crop Prod. 32: 405-410.

Tabela 1. Espécies vegetais selecionadas para obtenção dos óleos essenciais a partir de folhas.

Família	Espécie	Nome vulgar	Local de coleta
	<i>Citrus aurantium</i> L.	Lima-da-pérsia	
	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Tangerina cravo	
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> Osbeck	Laranja mimo	Santana do Mundaú-AL
	<i>Citrus sinensis</i> Osbeck x <i>Citrus reticulata</i> Blanco	Tangerina murcot	
	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Manjeriço	
Lamiaceae	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Alecrim	Chã Grande-PE
	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Tomilho	Cotia-SP
	<i>Lippia gracilis</i>	Alecrim da chapada	Serra Talhada-PE
Verbenaceae	<i>Lippia alba</i>	Erva-cidreira	Recife-PE

Tabela 2. Atividade repelente de óleos essenciais de espécies das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Espécie	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP ³	χ ² ⁴	CR ₅₀ (μL/mL) (IC 95%)	RR ₅₀ ^{5*} (IC 95%)
Manjeriçã	897	4	0,27±0,02	7,01	3,5x10 ⁻⁷ a (1,5x10 ⁻⁷ -7,6x10 ⁻⁷)	-
Tomilho	1022	6	0,33±0,02	5,36	2 x10 ⁻⁴ b (1x10 ⁻⁴ -3x10 ⁻⁴)	7,05x10 ² (0,03-1,64x10 ⁷)
Tangerina murcot	628	5	0,34±0,03	5,28	2x10 ⁻³ c (6x10 ⁻⁴ -5x10 ⁻³)	9,12x10 ³ (0,46-1,79x10 ⁸)
Alecrim	894	4	0,38±0,03	4,04	1x10 ⁻² cd (5x10 ⁻³ -2,5x10 ⁻²)	5,19x10 ⁴ * (3,26-8,27x10 ⁸)
Eugenol	874	4	0,36±0,03	1,88	1,5x10 ⁻² d (9x10 ⁻³ -2,8x10 ⁻²)	6,77x10 ⁴ * (4,38-1,05x10 ⁹)
Erva-cidreira	1026	5	0,47±0,03	6,53	4x10 ⁻² d (2x10 ⁻² -8x10 ⁻²)	1,71x10 ⁵ * (11,93-2,44x10 ⁹)
Tangerina cravo	893	4	0,61±0,04	2,96	0,2e (0,1-0,3)	9,93x10 ⁵ * (72,34-1,36x10 ¹⁰)
Laranja mimo	886	4	0,65±0,05	5,01	0,2e (0,1-0,3)	7,36x10 ⁵ * (53,30-1,02x10 ¹⁰)
Lima-da- pérsia	880	4	0,76±0,06	3,94	0,3e (0,2-0,4)	1,45x10 ⁶ * (106,54-1,99x10 ¹⁰)
Alecrim da chapada	879	4	0,54±0,04	3,71	1,08f (0,8-1,67)	5,13x10 ⁶ * (382,61-6,89x10 ¹⁰)

¹Número total de ácaros

²Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado

³Erro padrão da média

⁴Valor do qui-quadrado (P > 0,05)

⁵Razão de repelência calculada pelo método de Robertson & Preisler (1992). *Razão de repelência significativa a 5% quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0

Tabela 3. Ação fumigante de óleos essenciais de espécies das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae sobre ovos de *Tetranychus urticae*.

Óleos	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP ³	χ ² ⁴	CL ₅₀ (μL/L de ar) (IC 95%)	RT ₅₀ ^{5*} (IC 95%)
Tomilho	1890	4	0,96±0,10	5,60	0,002a (0,001-0,003)	-
Alecrim	1877	4	0,50±0,03	6,81	0,002a (0,001-0,003)	0,93 (0,20-4,23)
Tangerina cravo	1626	3	0,66±0,04	6,81	0,002a (0,001-0,003)	0,89 (0,19-4,17)
Manjeriçã	1871	4	0,88±0,05	4,13	0,004a (0,003-0,006)	2,47 (0,66-9,22)
Eugenol	1892	4	0,68±0,04	8,33	0,04b (0,02-0,08)	25,72* (8,83-74,87)
Tangerina murcot	1898	4	1,18±0,06	4,71	0,11b (0,08-0,15)	64,68* (22,75-183,92)
Lima-da-pérsia	1897	4	2,28±0,13	6,24	0,30c (0,25-0,36)	176,40* (62,43-498,45)
Alecrim da chapada	1607	3	3,65±0,23	7,61	0,32c (0,26-0,37)	186,12* (66,26-522,80)
Laranja mimo	1899	4	3,64±0,23	8,64	0,49d (0,41-0,56)	290,72* (102,96-820,87)
Erva-cidreira	1612	3	4,17±0,29	7,24	0,64d (0,52-0,73)	373,06* (131,40-1059,14)

¹Número total de ovos

²Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado

³Erro padrão da média

⁴Valor do qui-quadrado (P > 0,05)

⁵Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson & Preisler (1992). *Razão de toxicidade significativa a 5% quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0

Tabela 4. Ação fumigante de óleos essenciais de espécies das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Espécie	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP ³	χ ^{2 4}	CL ₅₀ (μL/L de ar) (IC 95%)	RT ₅₀ ^{5*} (IC 95%)
Eugenol	540	3	0,85±0,08	1,52	0,004a (0,002-0,005)	-
Tangerina cravo	626	4	1,27±0,11	5,64	0,01b (0,007-0,023)	3,88 (0,51-29,73)
Tomilho	621	4	1,05±0,10	4,23	0,02b (0,01-0,03)	5,77 (0,76-44,13)
Manjeriço	628	4	1,52±0,15	4,75	0,02b (0,01-0,03)	6,25 (0,84-46,49)
Erva-cidreira	809	6	1,67±0,16	8,89	0,06c (0,04-0,07)	15,26* (2,33-99,99)
Alecrim da chapada	539	3	1,29±0,11	2,96	0,06c (0,05-0,08)	17,60* (2,61-118,67)
Laranja mimo	615	4	2,21±0,18	5,91	0,12d (0,09-0,16)	76,70* (12,61-466,54)
Alecrim	528	3	4,07 ± 0,54	5,18	0,77e (0,48-0,96)	214,58* (34,21-1346,08)
Lima-da-pérsia	541	3	5,03±0,59	2,57	1,05e (0,94-1,14)	294,39* (45,71-1896,20)
Tangerina murcot	620	4	3,00±0,39	9,33	1,63e (0,94-2,12)	454,00* (67,22-3066,33)

¹Número total de ácaros

²Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado

³Erro-padrão da média

⁴Valor do qui-quadrado (P > 0,05)

⁵Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson & Preisler (1992). *Razão de toxicidade significativa a 5% quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0

Tabela 5. Mortalidade média de fêmeas adultas de *Neoseiulus californicus* por ação fumigante e residual de óleos essenciais de espécies das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae.

Óleos	Média ± EP (%) ¹	
	Fumigação	Residual
Manjericão	2,2 ± 1,11 a	4,8 ± 1,20 a
Alecrim	4,4 ± 1,11 a	8,2 ± 1,36 ab
Tangerina cravo	20,7 ± 0,41 b	8,0 ± 2,26 ab
Lima-da-pérsia	0,0 ± 0,00 a	12,6 ± 0,87 bc
Erva-cidreira	4,4 ± 1,11 a	20,0 ± 1,22 cd
Laranja mimo	2,2 ± 1,11 a	20,4 ± 0,87 d
Tangerina murcot	4,4 ± 1,11 a	21,6 ± 1,44 d
Alecrim da chapada	4,5 ± 1,09 a	74,0 ± 1,64 e
Tomilho	21,2 ± 2,94 b	83,8 ± 2,31 f
Eugenol	31,0 ± 1,75 c	83,8 ± 2,31 f

¹Média ± Erro-padrão. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P = 0,05).

Tabela 6. Ação residual de óleos essenciais de espécies das famílias Lamiaceae, Rutaceae e Verbenaceae sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Espécies	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP ³	χ ² ⁴	CL ₅₀ (μL/mL) (IC 95%)	RT ₅₀ ^{5*} (IC 95%)
Eugenol	199	5	2,19±0,31	5,69	8,74a (6,03-12,18)	-
Tangerina cravo	216	6	1,51±0,20	10,58	9,70ab (4,94-17,00)	1,13 (0,30-4,28)
Tomilho	192	5	1,21±0,16	3,59	16,86abc (10,82-26,32)	1,91 (0,49-7,41)
Manjeriçã	245	7	1,12±0,14	13,89	19,45abcd (9,18-41,16)	2,26 (0,60-8,45)
Alecrim	197	5	1,33±0,19	4,77	21,10bc (14,19-31,29)	2,40 (0,60-9,58)
Erva-cidreira	225	6	1,36±0,17	2,47	21,31bc (14,59-30,11)	2,46 (0,64-9,40)
Alecrim da chapada	225	6	1,50±0,19	4,54	29,70cd (21,41-40,57)	3,46 (0,94-12,68)
Laranja mimo	196	5	1,53±0,27	8,12	39,53cd (18,61-70,54)	4,51* (1,08-18,77)
Lima-da-pérsia	217	6	1,53±0,25	10,65	43,84cd (21,75-74,09)	5,09* (1,30-19,91)
Tangerina murcot	194	5	3,00±0,40	2,71	45,49d (38,05-54,07)	5,20* (1,53-17,71)

¹Número total de ácaros

²Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado

³Erro-padrão da média

⁴Valor do qui-quadrado (P > 0,05)

⁵Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson & Preisler (1992). *Razão de toxicidade significativa a 5% quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0

Tabela 7. Ação fumigante dos constituintes químicos sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Constituinte	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP ³	χ ^{2 4}	CL ₅₀ (μL/L de ar) (IC 95%)	RT ₅₀ ^{5*} (IC 95%)
Timol	537	3	1,45±0,13	6,35	0,002a (0,001-0,003)	-
Eugenol	540	3	0,85±0,08	1,52	0,004ab (0,002-0,005)	2,25 (0,13-38,11)
Mentol	530	3	1,83±0,20	3,26	0,007b (0,004-0,01)	4,38 (0,33-57,69)
Carvacrol	538	3	2,66±0,25	5,64	0,04c (0,03-0,05)	22,33 (2,36-211,56)
β-Cariofileno	810	6	0,80±0,05	9,12	0,05c (0,03-0,08)	28,18 (3,27-243,21)
Geraniol	538	3	5,56±0,57	3,08	0,29d (0,25-0,32)	182,15 (22,34-1.485,31)
Safrol	532	3	3,81±0,43	6,70	0,36de (0,23-0,46)	227,21 (28,05-1.840,73)
Nerolidol	533	3	7,97±0,87	3,10	0,38e (0,34-0,41)	239,01 (29,40-1.942,80)
Terpinen-4-ol	538	3	5,64±0,53	5,87	0,43e (0,36-0,50)	268,80 (32,64-2.213,85)
Linalol	617	4	7,01±0,52	6,93	0,78f (0,72-0,85)	491,39 (58,50-4.127,36)
Terpinoleno	535	3	2,17±0,18	6,93	1,08fg (0,62-1,63)	679,61 (79,66-5.797,66)
α-humuleno	629	4	1,80±0,11	6,37	1,86g (1,31-2,68)	1.180,93 (137,02-10.178,08)
p-cimeno	720	5	2,11±0,14	9,83	3,69h (2,72-4,71)	2.337,33 (267,23-20.443,80)
1,8-cineol	630	4	8,16±0,55	7,57	4,35h (3,96-4,72)	2.744,61 (314,61-23.943,56)
β-pineno	630	4	2,95±0,25	9,17	4,93h (3,50-6,17)	3.125,47 (347,58-28.104,26)
D-Limoneno	529	3	7,35±0,89	7,60	9,80i (7,06-11,39)	6.192,08 (631,64-60.702,02)

¹Número total de ácaros

²Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado

³Erro-padrão da média

⁴Valor do qui-quadrado (P > 0,05)

⁵Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson & Preisler (1992). *Razão de toxicidade significativa a 5% quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0

Tabela 8. Ação residual dos constituintes químicos sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Constituinte	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP ³	χ ² ⁴	CL ₅₀ (μL/mL) (IC 95%)	RT ₅₀ ^{5*} (IC 95%)
β-Cariofileno	200	5	2,25±0,28	0,72	0,64a (0,50-0,83)	-
Eugenol	199	5	2,19±0,31	5,69	8,74b (6,03-12,18)	13,54* (5,45-33,64)
Carvacrol	151	3	4,67±0,69	3,45	10,13b (7,69-13,21)	15,76* (6,14-40,43)
Nerolidol	150	3	4,22±0,67	1,48	15,67c (13,35-18,26)	24,29* (8,47-69,65)
α-humuleno	225	6	2,45±0,32	2,85	23,97d (19,33-28,94)	37,21* (15,81-87,60)
Timol	149	3	4,65±0,72	2,77	25,70d (22,27-29,39)	39,98* (14,72-108,59)
p-cimeno	225	6	2,69±0,34	6,49	36,95de (28,04-46,50)	57,53* (27,71-119,40)
β-pineno	200	5	2,74±0,34	4,08	38,94e (31,73-46,91)	60,08* (28,29-127,57)
Mentol	151	3	2,90±0,46	3,00	39,56e (31,12-48,89)	61,82* (23,91-159,84)
Geraniol	200	5	1,62±0,22	4,59	47,15ef (32,72-64,15)	67,30* (26,91-168,29)
Safrol	171	4	1,89±0,27	6,02	51,90def (27,01-90,30)	81,41* (36,43-181,96)
D-Limoneno	149	3	3,49±0,57	1,52	76,94f (63,20-92,21)	119,26* (67,46-210,84)
1,8-cineol	150	3	2,62±0,40	1,98	91,80f (72,79-117,84)	140,97* (91,13-218,07)
Linalol	148	3	3,19±0,53	3,73	138,88f (78,57-200,22)	216,43* (193,78-241,72)
Terpinoleno	146	3	3,05±0,52	3,79	341,91g (206,91-520,84)	531,54* (278,96-1.012,83)
Terpinen-4-ol	174	4	9,48±1,52	8,43	366,57g (306,48-421,31)	568,07* (312,18-1.033,72)

¹Número total de ácaros

²Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado

³Erro-padrão da média

⁴Valor do qui-quadrado (P > 0,05)

⁵Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson & Preisler (1992). *Razão de toxicidade significativa a 5% quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0

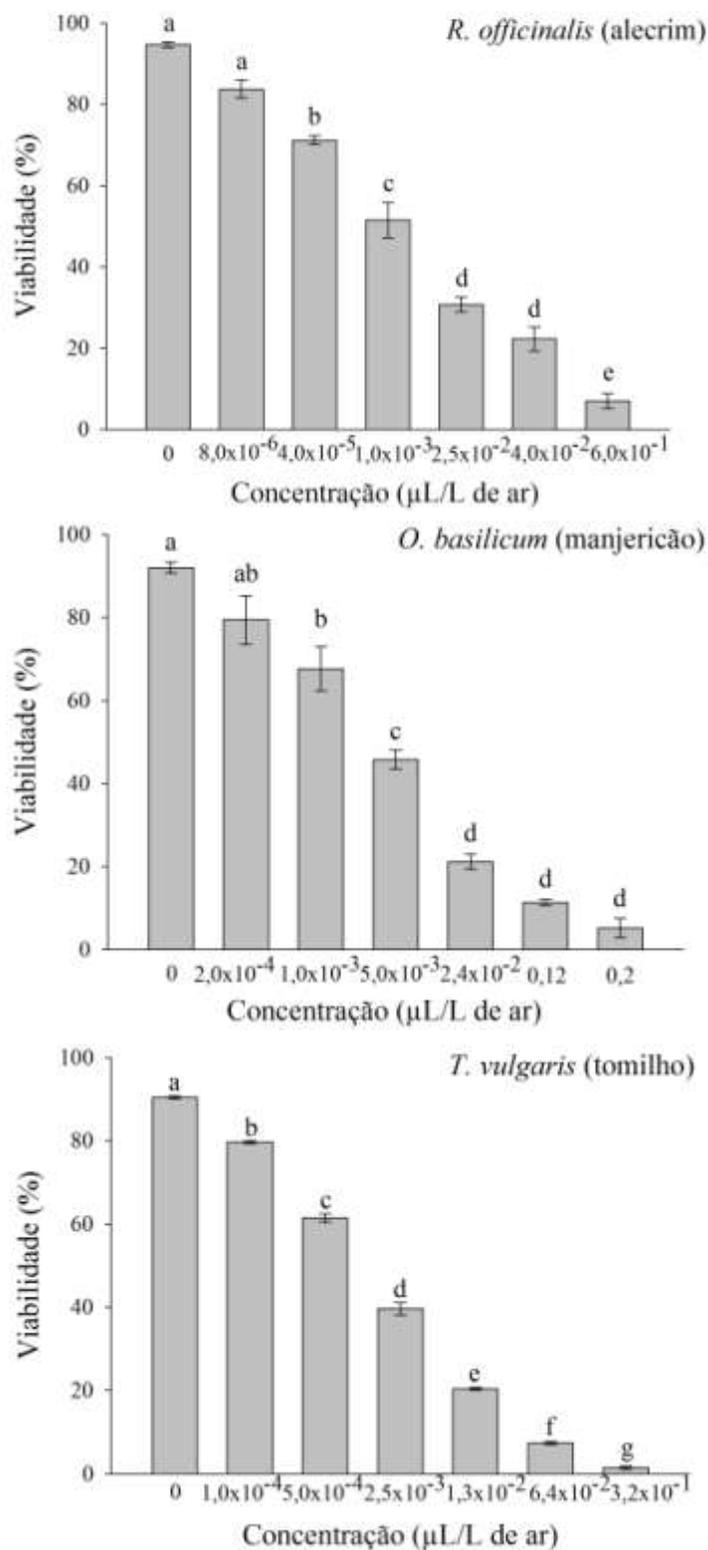


Figura 1. Viabilidade de ovos de *Tetranychus urticae* submetidos à fumigação com óleos essenciais de alecrim, tomilho e manjeriçao (Lamiaceae). Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

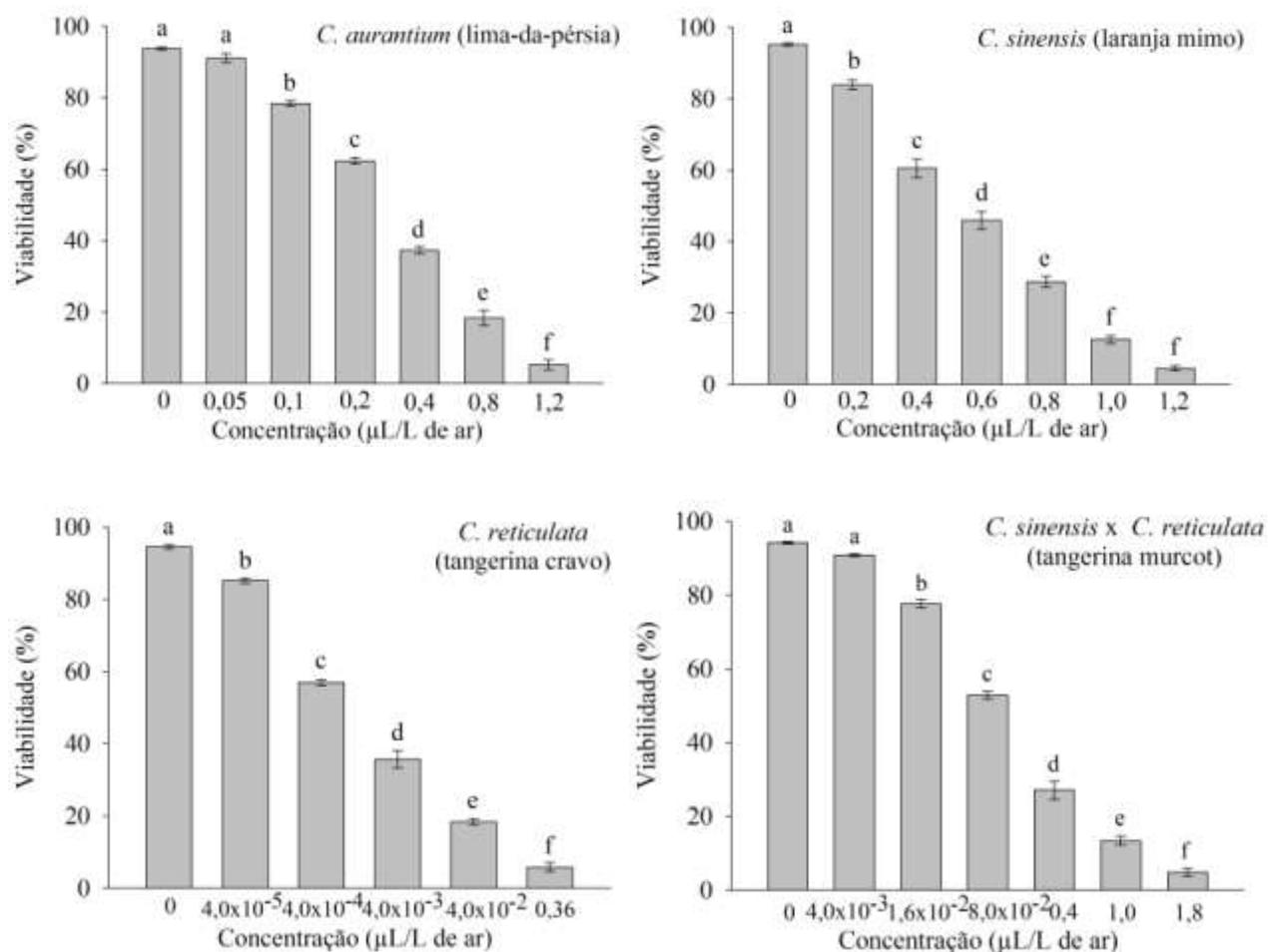


Figura 2. Viabilidade de ovos de *Tetranychus urticae* submetidos à fumigação com óleos essenciais de lima-da-pérsia, laranja mimo, tangerina cravo e tangerina murcot (Rutaceae). Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

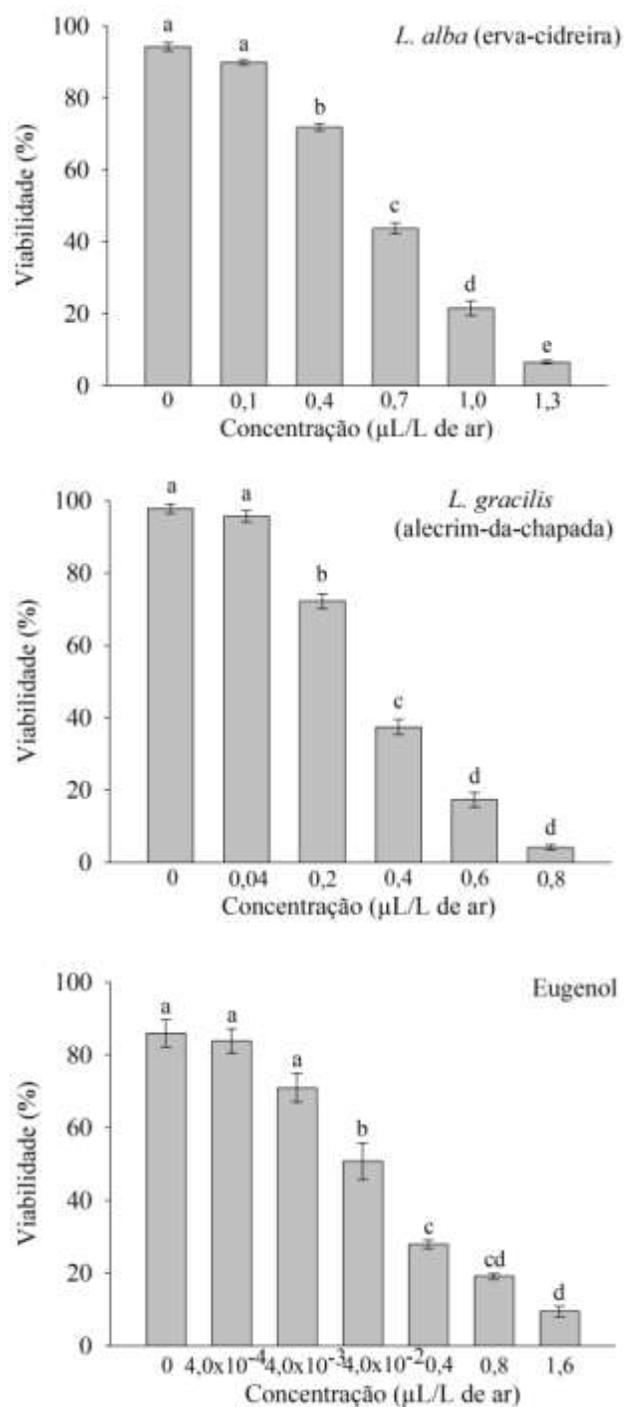


Figura 3. Viabilidade de ovos de *Tetranychus urticae* submetidos à fumigação com óleos essenciais de erva-cidreira, alecrim da chapada (*Verbenaceae*) e com o eugenol. Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

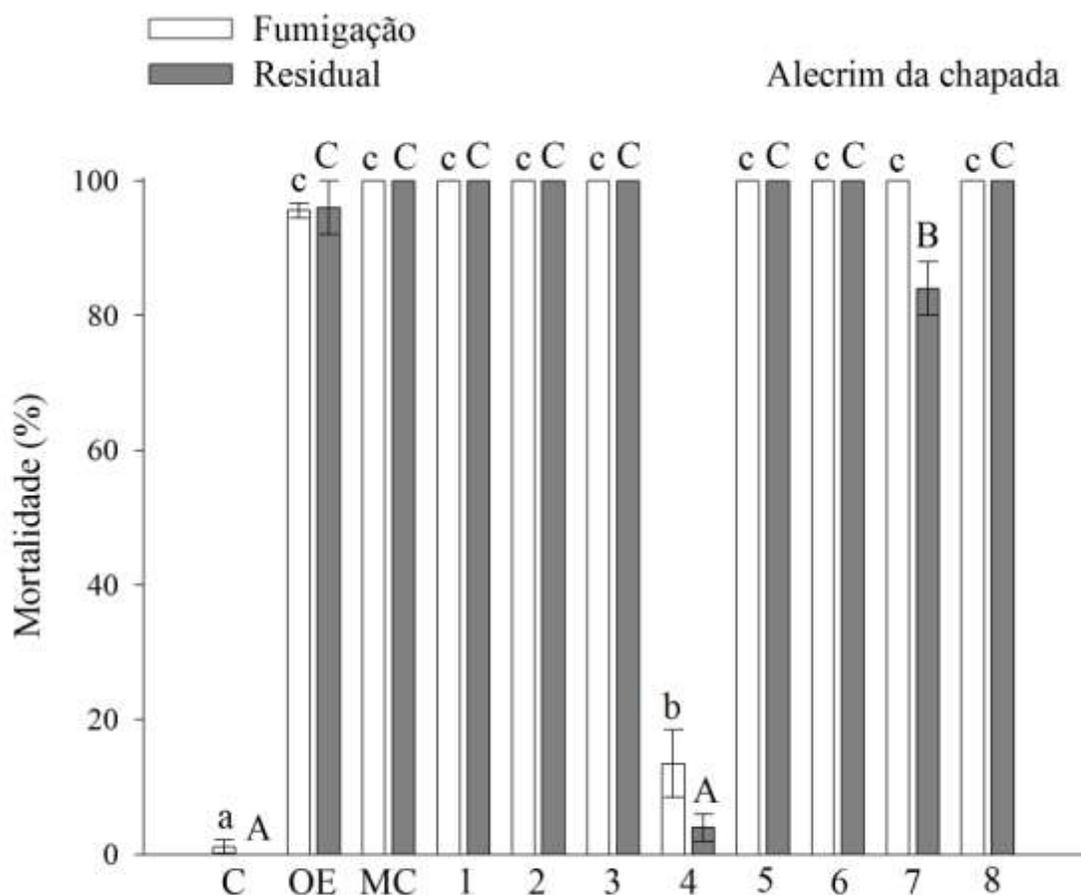


Figura 4. Mortalidade média (\pm EP) causada pelas misturas completa e incompletas preparadas com a remoção de um dos constituintes da mistura artificial do óleo essencial de *Lippia gracilis* (alecrim da chapada) sobre *Tetranychus urticae* nas concentrações equivalentes as dos experimentos com o óleo que promoveram mortalidades acima de 95,0% (1,2 μ L/L de ar para fumigação e 150 μ L/mL para contato residual). Barras com mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C = controle; OE = óleo essencial puro de alecrim da chapada, MC = mistura completa dos 8 compostos selecionados a partir do OE. Os números indicam as misturas com a ausência do composto marcado. 1 = 1,8-cineol; 2 = β -Cariofileno; 3 = β -pineno; 4 = carvacrol; 5 = D-Limoneno; 6 = *p*-cimeno; 7 = safrol; 8 = terpinoleno.

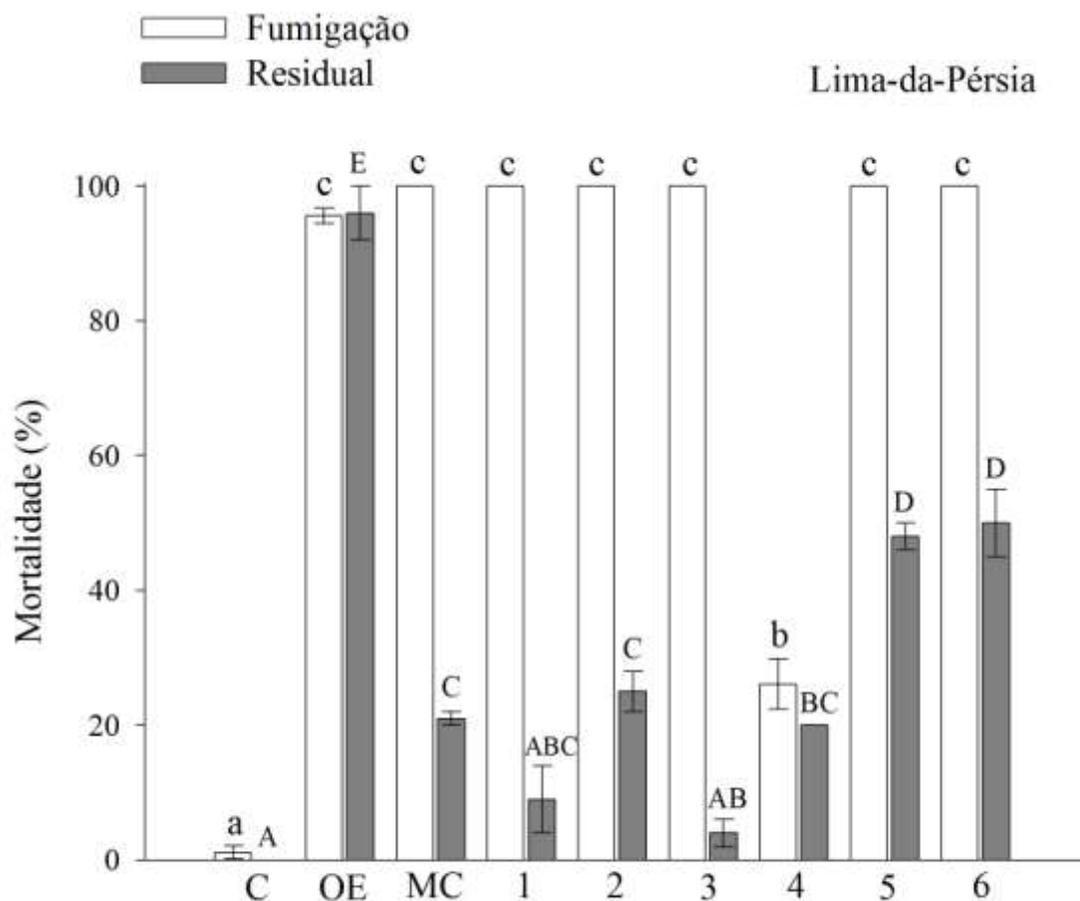


Figura 5. Mortalidade média (\pm EP) causada pelas misturas completa e incompletas preparadas com a remoção de um dos constituintes da mistura artificial do óleo essencial de *Citrus aurantium* (lima-da-pérsia) sobre *Tetranychus urticae* nas concentrações equivalentes as dos experimentos com o óleo que promoveram mortalidades acima de 95,0% (2,0 μ L/L de ar para fumigação e 150 μ L/mL para contato residual). Barras com mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C = controle; OE = óleo essencial puro de lima-da-pérsia, MC = mistura completa dos 6 compostos selecionados a partir do OE. Os números indicam as misturas com a ausência do composto marcado. 1 = geraniol; 2 = D-Limoneno; 3 = linalool; 4 = mentol; 5 = nerolidol; 6 = terpinoleno.

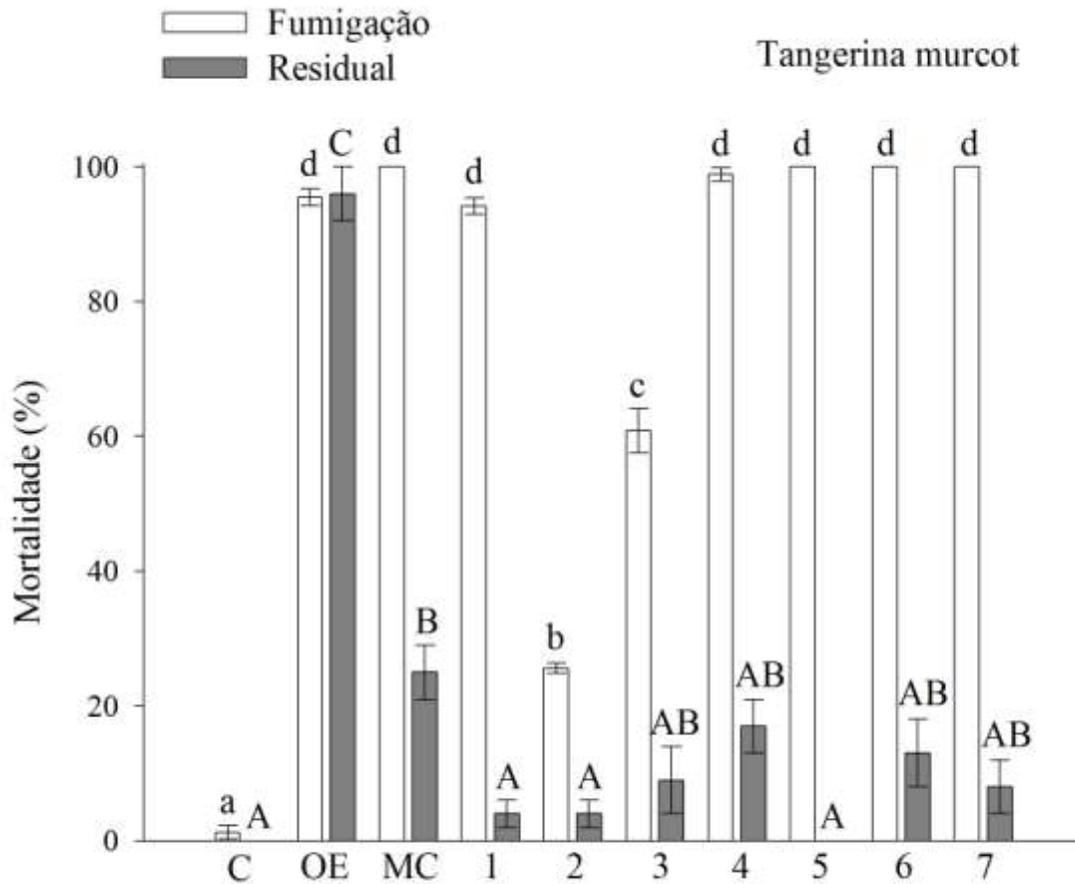


Figura 6. Mortalidade média (\pm EP) causada pelas misturas completa e incompletas preparadas com a remoção de um dos constituintes da mistura artificial de *Citrus sinensis* x *reticulata* (tangerina murcot) sobre *Tetranychus urticae* nas concentrações equivalentes as dos experimentos com o óleo que promoveram mortalidades acima de 95,0% (4,0 μ L/L de ar para fumigação e 130 μ L/mL para contato residual). Barras com mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C = controle; OE = óleo essencial puro de tangerina murcot, MC = mistura completa dos 7 compostos selecionados a partir do OE. Os números indicam as misturas com a ausência do composto marcado. 1 = D-Limoneno; 2 = linalool; 3 = mentol; 4 = *p*-cimeno; 5 = terpinen-4-ol; 6 = terpinoleno; 7 = timol.

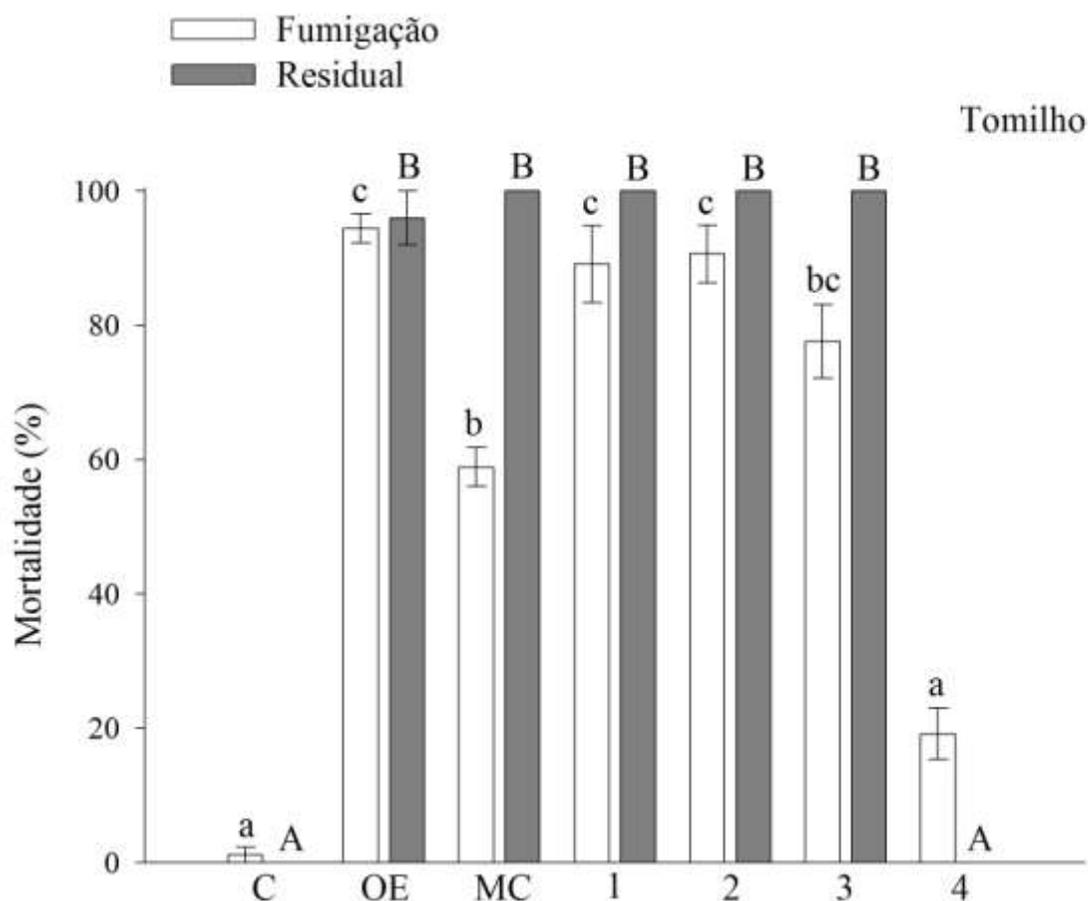


Figura 7. Mortalidade média (\pm EP) causada pelas misturas completa e incompletas preparadas com a remoção de um dos constituintes da mistura artificial de *Thymus vulgaris* sobre *Tetranychus urticae* nas concentrações equivalentes as dos experimentos com o óleo que promoveram mortalidades acima de 95,0% (0,32 μ L/L de ar para fumigação e 130 μ L/mL para contato residual). Barras com mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). C = controle; OE = óleo essencial puro de tomilho, MC = mistura completa dos 4 compostos selecionados a partir do OE. Os números indicam as misturas com a ausência do composto marcado. 1 = α -humuleno; 2 = β -pineno; 3 = *p*-cimeno; 4 = timol.

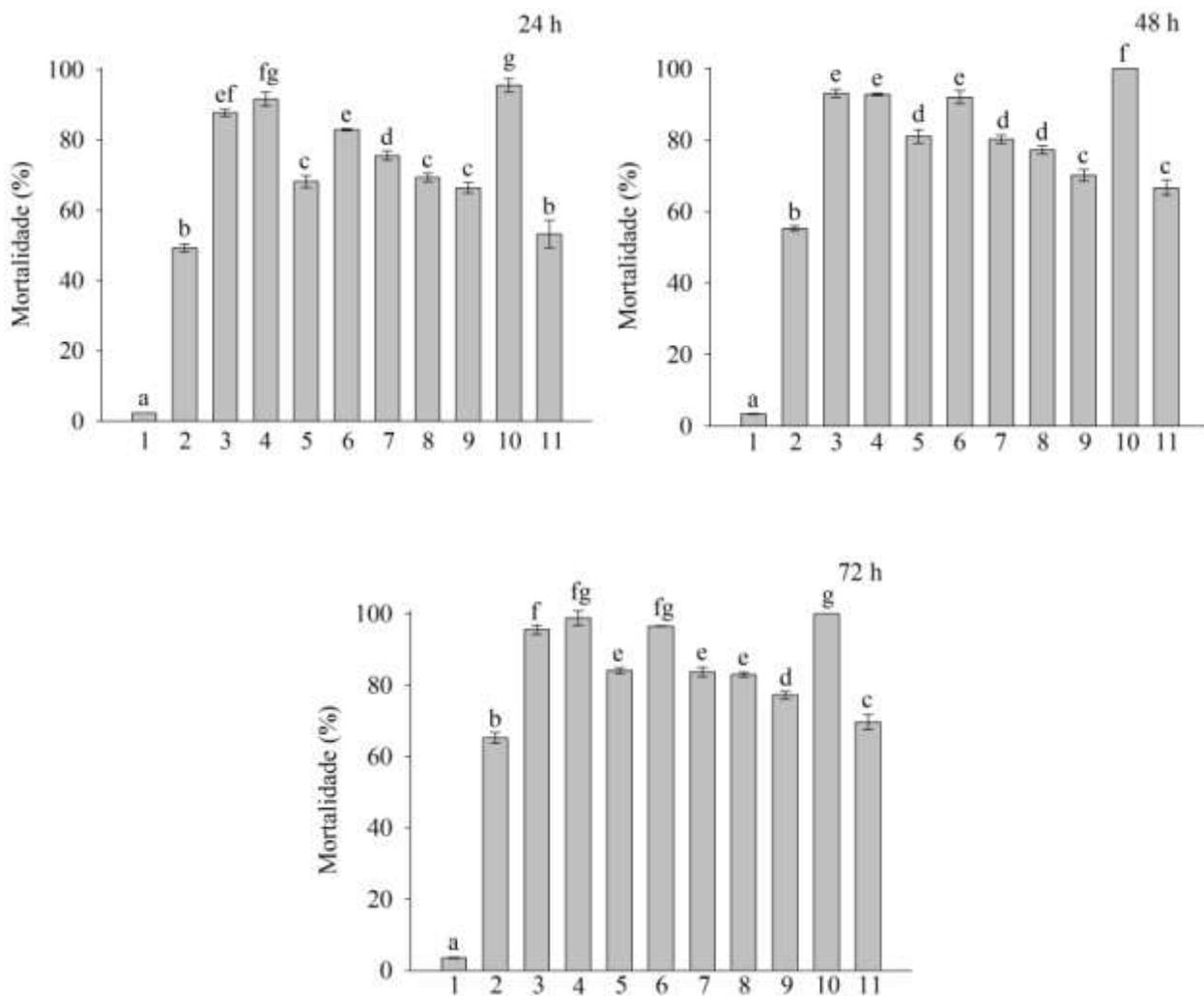


Figura 8. Mortalidade média (\pm EP) promovida pelos óleos essenciais sobre *Tetranychus urticae* em casa de vegetação após 24, 48 e 72 h de exposição. Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os números indicam os óleos essenciais testados. 1 = controle; 2 = eugenol; 3 = erva-cidreira; 4 = alecrim; 5 = tangerina cravo; 6 = alecrim da chapada; 7 = lima-da-pérsia; 8 = manjeriço; 9 = laranja mimo; 10 = tangerina murcot; 11 = tomilho.