



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL

MARIA HERLÂNDIA DE ARAÚJO FERNANDES

TOXICIDADE DE EXTRATOS ORGÂNICOS E ÓLEO
ESSENCIAL DE *Annona vepretorum* (ANNONACEAE)
SOBRE *Tetranychus urticae* Koch (ACARI:
TETRANYCHIDAE)

Petrolina - PE

2016

MARIA HERLÂNDIA DE ARAÚJO FERNANDES

**TOXICIDADE DE EXTRATOS ORGÂNICOS E ÓLEO
ESSENCIAL DE *Annona vepretorum* (ANNONACEAE)
SOBRE *Tetranychus urticae* Koch (ACARI:
TETRANYCHIDAE)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal do *Campus* de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal.

Orientadora: Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves Gervásio
Co-orientador: José Eudes de Moraes Oliveira

Petrolina - PE

2016

Fernandes, Maria Herlândia de Araújo
F363t Toxicidade de extratos orgânicos e óleo essencial de *Annona
vepretorum* (Annonaceae) sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari:
Tetranychidae) / Maria Herlândia de Araújo Fernandes. – Petrolina,
2016.
72 f. : il. ; 29 cm.

Dissertação (Pós-graduação em agronomia – Produção vegetal) –
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências
Agrárias, Petrolina-PE, 2016.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves
Gervásio.

Referências.

1. Annonaceae - Planta. 2. Annonaceae – Toxicidade. 3.
Annonaceae – Extrato Vegetal. 3. Sistema de Produção. I. Título. II.
Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 581

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

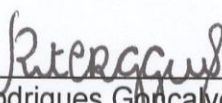
Maria Herlândia de Araújo Fernandes

TOXICIDADE DE EXTRATOS ORGÂNICOS E ÓLEO ESSENCIAL DE *Annona
vepretorum* (ANNONACEAE) SOBRE *Tetranychus urticae* Koch (ACARI:
TETRANYCHIDAE)

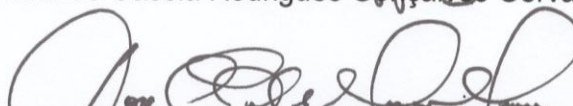
Dissertação apresentada como
requisito parcial para obtenção
do título de Mestre em
Agronomia – Produção Vegetal,
pela Universidade Federal do
Vale do São Francisco.

Aprovada em: 26 de Julho de 2016.

Banca Examinadora



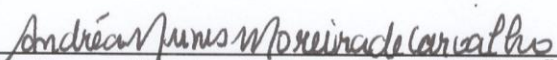
Dra. Rita de Cássia Rodrigues Gonçalves Gervásio – UNIVASF



Dr. José Eudes de Moraes Oliveira – EMBRAPA SEMIÁRIDO



Dr. Manoel Guedes Corrêa Gondim Junior – UFRPE



Dra. Andréa Nunes Moreira de Carvalho – IF SERTÃO PE

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

*Aos meus queridos pais Anastácio do Nascimento Fernandes e
Maria Auxiliadora de Araújo Fernandes.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao Pai Celestial, por me conceder a graça da vida e o seu amor incondicional, por me guiar e me ajudar as superar todos os obstáculos.

A Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), pela oportunidade de realização do curso.

A Fundação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

A Embrapa semiárido, por disponibilizar a estrutura para o desenvolvimento da pesquisa.

A minha família, principalmente aos meus pais, Maria Auxiliadora de A. Fernandes e Anastácio do N. Fernandes, pelas orações e apoio em cada escolha da minha vida.

Aos meus irmãos Ana Cleide de A. Fernandes, Aneilda de A. Fernandes, Maria José de A. Fernandes e Ailton de A. Fernandes. E aos meus amados sobrinhos Fernanda, Mirele, Samuel, Lara, James e Isabella.

Ao meu esposo Weberton Gomes Duarte, pelo amor, colaboração, paciência e por estar sempre ao meu lado disposto a me ajudar.

A minha orientadora, Profa. Rita de Cássia R. G. Gervásio, pela imensa paciência, ensinamentos e colaboração no desenvolvimento desse trabalho.

Ao meu co-orientador, Dr. José Eudes de M. Oliveira, pela valiosa colaboração nesse trabalho, disposição e ensinamentos. Por todas as oportunidades que me concedeu ao longo de muitos anos e por sempre acreditar e confiar em mim. Serei eternamente grata.

Ao Prof. Jackson Guedes e Ana Paula Oliveira pela imensa colaboração nas coletas e extrações, fazendo com que este trabalho fosse realizado.

A Izabel Cristina Casanova Turatti, pela colaboração na identificação dos compostos químicos dos óleos essenciais.

Aos colegas de turma pelo companheirismo e bons momentos compartilhados, em especial a Angélica Ricarte, pela amizade e por me ajudar nos momentos mais difíceis.

A minha amiga Karen Oliveira, por viver comigo muitos momentos bons e ruins da minha vida, por toda a ajuda prestada e disposição em me ajudar sempre.

A minha prima querida, Thiara Fernandes, pelo amor e amizade, e as minhas amigas de infância Blandinalva Pereira e Maria das Graças Moraes.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia da Embrapa Semiárido (Fabiana Soares, Adriana Maria, Tanira Ribeiro, Martin Duarte, Carla Patrícia, Farah Gama, Victor Hugo, Gedeão Arruda, Diniz da Conceição) pela colaboração e por todos os momentos de alegria e descontração. Os momentos com eles, guardarei para sempre.

Enfim, a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram no desenvolvimento deste trabalho, me apoiando e confiando em sua conclusão.

RESUMO

Tetranychus urticae Koch é considerada uma importante praga para muitas culturas de importância agrícola. Para o seu controle táticas de manejo tem sido investigadas como alternativa aos acaricidas sintéticos. O presente estudo objetivou avaliar a toxicidade de extratos orgânicos e óleo essencial de folhas de *Annona vepretorum* sobre o ácaro rajado *T. urticae*. A toxicidade do extrato metanólico foi avaliada através do contato direto (aplicação via torre de Potter) e contato residual (imersão do disco foliar). A toxicidade do extrato hexânico foi realizada apenas através de contato residual. A CL_{50} do extrato metanólico (por contato direto) foi aplicada sobre as fêmeas do ácaro para avaliar os efeitos subletais. O teste de dupla escolha avaliou a preferência do ácaro para alimentação e oviposição entre o controle e as diferentes concentrações dos extratos. Os compostos químicos dos óleos essenciais de folhas de *A. vepretorum*, coletados em duas épocas distintas, foram analisados por CG/EM. Para os testes com óleos essenciais, recipientes de vidro (1,4 L) foram utilizados como câmaras de fumigação. A toxicidade por contato foi realizada somente com o óleo da época 2. Os resultados indicam que a CL_{50} do extrato metanólico foi de 10,96 mg/mL para o efeito de contato direto e 22,07 mg/mL para o efeito de contato residual. A CL_{50} do extrato hexânico foi de 50,61 mg/mL. A CL_{50} do extrato metanólico interferiu na fecundidade e longevidade das fêmeas, diferindo significativamente do controle. Porém, não houve diferenças entre os tratamentos quanto a viabilidade de ovos. No teste de dupla escolha, 82 a 99% de *T. urticae* preferiu o controle para alimentação e 84 a 100% para oviposição. A análise dos óleos essenciais por CG/EM revelou como constituinte majoritário o espatulenol (29,84%) na época 1 (junho/2015) e biciclogermacreno (28,81%) na época 2 (fevereiro/2016). Foi constatado efeito significativo na interação entre as épocas de coleta e as diferentes concentrações do óleo. A ação fumigante dos óleos foi maior após 72 h, na concentração de 40 μ L/L, alcançando em média 98,9 e 97,2% de mortalidade nas épocas 1 e 2, respectivamente. No teste de contato, análise de regressão só foi significativa para as concentrações de 200, 600 e 800 μ L/mL. A toxicidade por contato foi maior nas primeiras 24 horas, onde a maior mortalidade (96,4%) foi obtida com 800 μ L/mL. Os resultados indicam que *A. vepretorum* tem poder acaricida e revela ser uma alternativa possível no manejo sustentável de *T. urticae*. Porém, muitos outros trabalhos devem ser realizados, uma vez que, este é o primeiro estudo que avalia a atividade pesticida dessa espécie vegetal.

PALAVRAS-CHAVE: Ácaro rajado. Acaricida botânico. Controle alternativo. Annonaceae.

ABSTRACT

Tetranychus urticae Koch is considered an important pest for many crops of agricultural importance. Management tactics have been investigated as an alternative to synthetic miticides to control this mite. This study aimed to evaluate the toxicity of organic extracts and essential oil of *Annona vepretorum* leaves on *T. urticae* mite. The toxicity of methanol extract was evaluated through direct contact (via application of Potter tower) and residual contact (immersion of leaf disc). The toxicity of hexane extract was carried out only by residual contact. The CL₅₀ of the methanol extract (by direct contact) was applied to the female mite to assess sublethal effects. The test double choice evaluated the preference mite feeding and oviposition between the control and different concentrations of the extracts. The chemical compounds of essential oils from leaves of *A. vepretorum* collected in two different periods, were analyzed by GC/MS. For tests with essential oils, glass containers (1.4 L) were used as fumigation chambers. The toxicity was performed only by contact with the oil of the time 2. The results indicate that the LC₅₀ of the methanol extract was 10.96 mg/mL for direct contact effect and 22.07 mg/mL to contact the residual effect. The CL₅₀ of the hexane extract was 50.61 mg/mL. The CL₅₀ of the methanol extract interfere on fertility and longevity of females, differing control significantly. However, there were no differences between treatments for the egg viability. In the dual choice test, 82 to 99% of *T. urticae* has preferred the control for the alimentation and 84 to 100% for oviposition. The analysis of the essential oils by GC/MS has revealed the spathulenol as major constituent (29.84%) at the time 1 (June/2015) and bicyclogermacrene (28.81%) at the time 2 (February/2016). It was noted significant effect on the interaction between collection time and the different oil concentrations. The fumigant action of the oils was greater after 72h, at concentration of 40 µL/L, reaching the average 98.9 and 97.2% of mortality at the times 1 and 2, respectively. In the contact test, regression analysis was only significant at the concentrations of 200, 600, and 800 µL/mL. The toxicity by contact was greater in the first 24 hours, where the highest mortality rate (96.4%) was obtained with 800 µL/mL. The results indicate that *A. vepretorum* has acaricide power and reveals himself to be a possible alternative in the sustainable management of *T. urticae*. However, many other work must be performed, since this is the first study evaluating the pesticidal activity of this plant species.

KEY WORDS: Spotted spider mite. Botanical acaricide. Alternative control. Annonaceae.

Lista de figuras

Capítulo 1	Pág.
Figura 1. Mortalidade de <i>Tetranychus urticae</i> em diferentes tempos de avaliação (horas) por efeito de contato residual do extrato hexânico de folhas de <i>Annona vepretorum</i>	28
Figura 2. Figura 2. Mortalidade de <i>Tetranychus urticae</i> em diferentes tempos de avaliação (horas) por efeito de contato direto (A) e contato residual (B) do extrato metanólico de folhas de <i>Annona vepretorum</i>	29
Figura 3. Frequência média (%) de fêmeas de <i>Tetranychus urticae</i> na escolha pelo hospedeiro tratado e não tratado com extrato metanólico de <i>Annona vepretorum</i> em diferentes concentrações. Avaliação após 24 horas da liberação das fêmeas. Diferenças significativas analisadas pelo teste qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade.....	32
Figura 4. Frequência média (%) de fêmeas de <i>Tetranychus urticae</i> na escolha pelo hospedeiro tratado e não tratado com extrato hexânico de <i>Annona vepretorum</i> em diferentes concentrações. Avaliação após 24 horas da liberação das fêmeas. Diferenças significativas analisadas pelo teste qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade.....	32
Capítulo 2	
Figura 1. Efeito de concentrações do óleo essencial de folhas de <i>Annona vepretorum</i> e duas épocas de coleta do material vegetal sobre a mortalidade de <i>Tetranychus urticae</i> , após 24h (A), 48h (B) e 72h (C) de exposição. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. ****: modelo de regressão significativo ($p \leq 0,0001$).....	50
Figura 2. Efeito de concentrações do óleo essencial de folhas de <i>Annona vepretorum</i> e três tempos (horas) de avaliação sobre a mortalidade de <i>Tetranychus urticae</i> . NS: modelo de regressão não significativo, **: modelo de regressão significativo ($p \leq 0,01$). ****: modelo de regressão significativo ($p \leq 0,0001$).....	53

Lista de tabelas

Capítulo 1	Pág.
Tabela 1. Toxicidade por contato direto e contato residual dos extratos, metanólico e hexânico, de folhas de <i>Annona vepretorum</i> sobre fêmeas adultas de <i>Tetranychus urticae</i> após 72 horas de exposição.....	26
Tabela 2. Efeitos subletais (Média ± EP) da CL ₅₀ (10,96 mg/mL) do extrato metanólico de folhas de <i>Annona vepretorum</i> sobre fêmeas adultas de <i>Tetranychus urticae</i>	31
Capítulo 2	
Tabela 1. Composição química do óleo essencial de folhas de <i>Annona vepretorum</i> coletas em junho de 2015 (época 1).....	46
Tabela 2. Composição química do óleo essencial de folhas de <i>Annona vepretorum</i> coletas em fevereiro de 2016 (época 2).....	47

SUMÁRIO

	Pág.
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	3
3 REFERÊNCIAS.....	10
4 BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE <i>Annona vepretorum</i> (ANNONACEAE) SOBRE <i>Tetranychus urticae</i> (ACARI: TETRANYCHIDAE).....	17
RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	18
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	33
5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ACARICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Annona vepretorum</i> (ANNONACEAE) SOBRE <i>Tetranychus urticae</i> (ACARI: TETRANYCHIDAE).....	38
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	39
INTRODUÇÃO.....	40
MATERIAL E MÉTODOS.....	42
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	55
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, dentre as seis espécies da família Tetranychidae que causam danos às plantas cultivadas, *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae) é a que possui o maior número de hospedeiros. Essa espécie é considerada como uma das mais importantes de ácaros-praga em todo o mundo, atacando frutíferas, hortaliças e plantas ornamentais (VAN LEEUWEN et al., 2007; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Apesar do controle químico ser o principal método de controle de *T. urticae*, a utilização de inimigos naturais tem sido uma prática cada vez mais frequente. Entretanto, os agentes de biocontrole têm apresentado eficácia limitada frente a elevados níveis populacionais da praga, além de se mostrarem suscetíveis à maioria dos pesticidas sintéticos (MIRESMAILLI; ISMAN, 2006). Os problemas frequentemente relacionados à utilização indiscriminada do controle químico referem-se à elevada toxicidade dos produtos ao meio ambiente, bem como aos riscos que representam para a saúde humana. Outro problema relevante, é que o ácaro *T. urticae* tem rápida capacidade de desenvolver populações resistentes a pesticidas, estando entre os grupos de artrópodes com maior incidência de problemas relacionados à resistência (VAN LEEUWEN et al., 2010).

O aumento na frequência de indivíduos resistentes a pesticidas, bem como a compreensão dos efeitos nocivos de sua utilização, tem evidenciado uma tendência de redução do uso desses produtos químicos (KIM et al., 2004). Por outro lado, pesquisas envolvendo produtos à base de plantas têm-se intensificado na busca por alternativas que possam substituir o uso abusivo de inseticidas/acaricidas sintéticos. Nos últimos 30 anos houve um crescente aumento no interesse em estudos por pesticidas botânicos (ISMAN; GRIENEISEN, 2014). É relatado que os biopesticidas estão crescendo 10-15% ao ano, em comparação com agrotóxicos que crescem por ano a uma taxa de 5-6% (MARONE, 2013).

Estudos envolvendo plantas com atividade biológica contra artrópodes demonstram que essa característica está relacionada à presença de metabólitos secundários, alguns dos quais têm sido amplamente investigados (KIM et al., 2003; ALVAREZ et al., 2007; KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014). Dentre as substâncias botânicas com reconhecida atividade inseticida

destacam-se piretrinas, rotenona, nicotina, cevadina, veratridina, rianodina, quassinoides e azadiractina (ISMÁN, 2000).

Nos artrópodes, os metabólitos secundários de plantas podem agir inibindo a alimentação, interferindo no crescimento, desenvolvimento, reprodução e comportamento (MENEZES, 2005).

Diversas famílias de plantas, já foram avaliadas quanto ao seu poder como pesticida. Dentre essas, a família Annonaceae se destaca pelos potentes metabólitos secundários denominados de acetogeninas, os quais apresentam bioatividade sobre diversos organismos. Essa classe de substâncias exibe uma série de propriedades biológicas, tais como atividade citotóxica, antitumoral, antiparasitária, antimicrobiana, pesticida e imunossupressora (BERMEJO et al., 2005; SANTOS; PIMENTA; BOAVENTURA, 2007). Produtos derivados de várias espécies dessa família, como extratos e óleos essenciais, já foram testados principalmente contra lepidópteros, coleópteros e hemípteros (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

A família Annonaceae é uma das maiores entre as Angiospermas, compreendendo cerca de 2.400 espécies descritas no mundo (CHATROU et al., 2012). Entretanto, a grande maioria dessas ainda não foi estudada, inclusive como potencial inseticida/acaricida, como é o caso da espécie *Annona vepretorum* Mart. Na literatura, existem poucos trabalhos envolvendo essa espécie, sendo que não há estudo investigando suas propriedades contra artrópodes.

Diante dos problemas enfrentados no controle do ácaro *T. urticae*, é importante investigar novas táticas de manejo para essa praga. O uso de produtos naturais derivados de plantas, que sejam eficazes e garantam sustentabilidade à produção agrícola, despontam como uma alternativa promissora, sendo os pesticidas oriundos de anonáceas um dos mais interessantes. O uso integrado de acaricidas botânicos com outras medidas de controle poderia ser mais uma opção economicamente viável para o controle dessa praga. Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo avaliar a atividade biológica de extratos orgânicos e óleo essencial de *A. vepretorum* sobre *T. urticae*.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Dentre os inúmeros artrópodes que se alimentam de plantas, destacam-se ácaros fitófagos, da família Tetranychidae, dentro da qual já foram catalogados 1.189 espécies filiados a 71 gêneros. Dessas, 54 espécies têm sido relatadas como pragas de diferentes culturas em todo o mundo (YANINEK; MORAES, 1991; BOLLAND et al., 1998). No Brasil, apenas seis espécies apresentam importância econômica e apenas uma, *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae), possui um grande número de hospedeiros e causa danos severos a muitos deles (MORAES; FLECHTMANN, 2008). Essa espécie de ácaro ataca aproximadamente 1.100 espécies de plantas, incluídas em mais de 140 famílias, destacando-se culturas de valor econômico como: tomate, pepino, melão, morango, milho, soja, maçã, uva e citros (GRBIC et al., 2011; GERSON; WEINTRAUB, 2012).

Tetranychus urticae, conhecido popularmente como ácaro-rajado devido a presença de duas manchas escuras em cada lado do dorso, é considerada uma espécie polífaga que apresenta distribuição cosmopolita. Seus danos estão relacionados, principalmente ao seu hábito alimentar, pois ao inserir os estiletes quelicerais no tecido vegetal, danificam as células epidérmicas e parenquimatosas das folhas, rompendo-as e removendo sua clorofila, provocando injúrias como clorose, necrose e, levando, em ataques mais intensos, à redução de produtividade e risco a sobrevivência da planta (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

No Brasil, essa praga já foi registrada em diversos estados. Especificamente em Pernambuco, sua primeira ocorrência foi registrada em 1985, após o início do cultivo irrigado no município de Petrolina (MORAES, 2001). Nessa região, a incidência do ácaro rajado tem promovido grandes prejuízos com inúmeras perdas agrícolas, variando de 30-100% da produção de culturas, como tomateiro, feijoeiro e mamoeiro (ARAÚJO, 2011).

Um dos desafios enfrentados no controle do *T. urticae* está relacionado ao seu curto ciclo de vida, tipo de reprodução e grande potencial biótico (STUMPF; NAUEN, 2001). Nas condições de 25 ± 2 °C e 65 ± 5 % UR., o desenvolvimento da fêmea de ovo a adulto, em variedade de feijão Kartica, dura em média $9,61\pm 0,06$ dias e do macho $9,30\pm 0,13$. Nessas mesmas condições e variedade, as fêmeas apresentam um período de oviposição em

média de $18,00 \pm 0,52$ dias, podendo chegar a ovipositar $108,46 \pm 1,60$ ovos durante o período reprodutivo. A longevidade das fêmeas é de $21,63 \pm 0,54$ (UDDIN et al., 2015). É possível que *T. urticae* complete uma geração entre 1 a 3 semanas, dependendo da planta hospedeira e condições climáticas (GERSON; WEINTRAUB, 2012).

Durante seu desenvolvimento, os ácaros passam pelos estágios de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. A reprodução ocorre por partenogênese facultativa, sendo haplo-diplóides, onde os machos são produzidos por partenogênese arrenótoca e as fêmeas por meio de reprodução sexuada (MORAES; FLECHTMANN, 2008). Assim, uma colônia pode ser originada de uma única fêmea.

Devido a suas características e grande importância para agricultura, o manejo integrado do ácaro rajado é fundamental. Seu controle tem sido realizado sobretudo por meio do uso de acaricidas sintéticos (SATO et al., 2000; VAN LEEUWEN et al., 2010) e de inimigos naturais (MORAES, 2002; SATO et al., 2002). O controle biológico dessa praga, no Brasil, é realizado por ácaros predadores da família Phytoseiidae, como *Neoseiulus californicus* (McGregor) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks). Esse controle tem sido utilizado em culturas como morango, crisântemo, gérbera, maçã e pêssego (COLLIER et al., 2001; SATO et al., 2007). Porém, em alguns casos, o controle com acaricidas químicos sintéticos é a única estratégia utilizada pelos produtores (PEIXOTO et al., 2008) e, embora eficiente, o uso indiscriminado desses pesticidas pode apresentar uma série de problemas, como contaminação ambiental, presença de altos níveis de resíduos nos alimentos, desequilíbrios biológicos, além de selecionar populações resistentes, que, por sua vez, torna o método ineficiente em várias situações (VAN DE VRIE; MURTRY; HUFFAKER, 1972).

A resistência de artrópodes a inseticidas tem sido um dos maiores problemas da produção agrícola (WHALON; MOTA-SANCHEZ; HOLLINGWORTH, 2008). Na literatura, *T. urticae* se destaca como o artrópode com maior número de casos de resistência a uma grande quantidade de ingredientes ativos (ARAÚJO, 2011). Atualmente são registrados 479 casos de resistência a 94 ingredientes ativos diferentes (APRD, 2016).

Mediante a necessidade de novas estratégias de manejo do ácaro-rajado, torna-se indispensável a investigação de novos métodos de

controle que sejam eficazes e respeitem os preceitos de sustentabilidade. Nos últimos anos, a pesquisa com plantas inseticidas e suas propriedades acaricidas tem se intensificado com o objetivo de se descobrir compostos que possam substituir acaricidas químicos no controle de ácaros-praga. Alternativas aos produtos químicos convencionais são necessárias, buscando um controle que cause menos dano ao ambiente e seja menos tóxico ao homem. Assim, os produtos de origem vegetal podem ser uma alternativa viável por apresentarem diversas vantagens quando comparadas aos inseticidas/acaricidas sintéticos. Esses produtos exibem reduzida persistência e acumulação no meio ambiente, além de serem, mais seletivos, biodegradáveis e não apresentarem os conhecidos efeitos colaterais típicos dos inseticidas convencionais (GIONETTO; CHÁVEZ, 2000).

O uso de extratos vegetais para o controle de pragas agrícolas é uma tática relativamente antiga, usada há pelo menos dois milênios, sendo considerada importante para o manejo de pragas na China Antiga (LONG; HOCK; HUNG, 2006), Egito, Grécia e Índia (ISMAN, 2006). Nos Estados Unidos e em alguns países da Europa, inseticidas botânicos foram predominantemente utilizados antes da descoberta dos inseticidas organo-sintéticos no final dos anos 1930 a início 1940 (ISMAN, 1997). Devido aos problemas relatados com inseticidas sintéticos, nos últimos 30 anos tem-se verificado um aumento crescente de pesquisas com extratos de plantas (ISMAN; GRIENEISEN, 2014), levando ao que pode ser considerado uma segunda era dos inseticidas botânicos.

As pesquisas com plantas inseticidas são realizadas normalmente com o objetivo de descobrir novas moléculas que permitam a formulação de produtos sintéticos ou a obtenção de inseticidas botânicos naturais para uso direto no controle de pragas (VENDRAMIM, 1997). Seu uso vem sendo investigado na forma de extratos, pós, substâncias puras, óleos emulsionáveis e óleos essenciais e podem atuar nos insetos por ingestão, contato e fumigação (ISMAN, 2006; RAJENDRAN; SRIRANJINI, 2008). São geralmente biodegradáveis, de baixa toxicidade para vertebrados e podem apresentar seletividade para inimigos naturais (COSME; CARVALHO; MOURA, 2007). Nos insetos, os efeitos desencadeados incluem mortalidade, redução na fecundidade e fertilidade, deterrência e repelência (ROEL, 2001; MARTINEZ, 2002).

Os produtos à base de plantas apresentam uma diversidade de compostos ativos, que agem sinergicamente, e possuem efeito inseticida comprovado, além de dificilmente desenvolverem populações de insetos resistentes. Assim, podem ser empregados em sistemas de manejo integrado de pragas, como alternativas direcionadas para controle das populações de insetos e ácaros (NAVARRO-SILVA; MARQUES; DUQUE, 2009). Esses inseticidas botânicos são produtos derivados de algumas plantas, que, ao longo de sua evolução, desenvolveram sua própria defesa química contra os insetos herbívoros, sintetizando metabólitos secundários com propriedades inseticidas, que apresentam, principalmente, atividade tóxica ou repelente contra diversos organismos (WIESBROOK, 2004). A aplicação de produtos derivados de plantas contra insetos têm aumentado nos países industrializados, e também no Brasil, principalmente pelo fato do país possuir uma flora rica e diversificada (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014). O Brasil é considerado o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, de um total estimado entre 350.000 a 550.000 (SIMÕES et al., 2002).

Considerando a valiosa flora brasileira, juntamente com os esforços despendidos por pesquisadores, um grande número de inseticidas botânicos poderia ser desenvolvido (ISMAN; GRIENEISEN, 2014). No entanto, esses atributos não se refletem em número de registros inseticidas botânicos. Isso, em grande parte, porque o Brasil tem um dos regimes de regulação de pesticidas mais complexos em todo o mundo, envolvendo avaliação de três ministérios distintos (Agricultura, saúde e meio ambiente). Um exemplo claro é observado com inseticidas botânicos baseados em *Annona squamosa*. Enquanto na Índia estes inseticidas já têm sido aprovados e comercializados, no Brasil, maior centro de biodiversidade do gênero *Annona*, ainda falta um adequado desenvolvimento de produtos que possam ser disponibilizados comercialmente, mesmo havendo informações sobre um grande número de plantas com atividade inseticida, fungicida e nematicida (ISMAN, 2015; VASANTHARAJ, 2008).

Na busca por moléculas bioativas de plantas, muitas famílias vêm sendo estudadas, como, por exemplo, Meliaceae, Rutaceae, Cannellaceae, Labiatae e Annonaceae. Dentre os grupos de plantas conhecidos por produzirem metabólitos secundários tóxicos a herbívoros, a família Annonaceae Juss. é

uma das que apresentam um maior número de espécies fonte de princípios ativos com propriedades inseticidas com diferentes modos de ação em relação a diferentes espécies de insetos (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

As anonáceas compreendem uma família botânica com cerca de 108 gêneros e 2.400 espécies descritas (CHATROU et al., 2012), distribuídas pelo mundo. Entre estas espécies, aproximadamente 900 estão presentes nas Américas (JUNIKKA; KOEK-NOORMAN, 2007). No Brasil, foram registrados 29 gêneros, abrangendo aproximadamente 392 espécies (MASS et al., 2016). Seus representantes são plantas lenhosas, de porte arbóreo ou arbustivo. Algumas espécies de plantas dessa família produzem frutos comestíveis, outras têm ação medicinal, efeito inseticida e algumas são utilizadas na perfumaria (CRUZ-CHACÓN; ESQUINCA, 2015). Entre as anonáceas de interesse comercial que são cultivadas no Brasil, encontram-se as espécies do gênero *Annona* L., composto por aproximadamente 90 espécies, as quais são conhecidas popularmente como pinha, ata, cherimóia, araticum, fruta-do-conde, graviola, atemóia e condessa (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2014).

Algumas plantas do gênero *Annona* possuem potencial farmacológico no que diz respeito às atividades anti-inflamatória, antinociceptiva (SIEBRA et al., 2009), antioxidante (LIMA; PIMENTA; BOAVENTURA, 2010), antitumoral (LIMA et al., 2012), antimicrobiana (COSTA et al., 2013), ansiolítica, sedativa e antidepressiva (DINIZ et al., 2013). Além disso, muitos estudos relacionados a esse gênero têm sido realizados para avaliar a atividade fitoinseticida no controle de pragas agrícolas.

Insetos de diferentes ordens têm sido submetidos a testes, principalmente em condições de laboratório, para demonstrar o potencial das espécies de *Annona* no controle de pragas. Dentre os lepidópteros, de grande importância econômica, já controlados, estão *Anticarsia gemmatalis* (Noctuidae) (SAITO et al., 2004; SCHLÜTER, 2006), *Anagasta kuehniella* (Pyralidae) e *Corcyra cephalonica* (Pyralidae) (COELHO; MARANGONI; MACEDO, 2007), *Tuta absoluta* (Gelechiidae) (SILVA; PEREIRA; BENTO, 2007), *Plutella xylostella* (Plutellidae) (SCHLÜTER, 2006; TRINDADE et al., 2011) e *Leucinodes orbonalis* (Pyralidae) (OWOSU, 2012). Como exemplo de insetos da ordem Coleoptera também controlados nas mesmas condições, destacam-se, *Leptinotarsa decemlineata* (Chrysomelidae) (GUADAÑO et al., 2000), *Epilachna vigintioctopunctata* (Coccinellidae) (KARUNARATNE; ARUKWATTA,

2009), e *Oryctes rhinoceros* (Dynastidae) (SREELETHA; GEETHA, 2012). E no grupo dos hemípteros encontram-se *Dichelops melacanthus* (Pentatomidae) (SOUZA; CORDEIRO; PEREIRA, 2007), *Oncopeltus fasciatus* (Lygaeidae) (ÁLVAREZ et al., 2008), *Euschistus heros* (Pentatomidae) (MAGALHÃES et al., 2011; MIKAMI, 2011), *Rhodnius neglectus* (Reduviidae) (COSSOLIN et al., 2011), *Tibraca limbativentris* (Pentatomidae) (KRINSKI; MASSAROLI, 2013) e *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae) (CRUZ-ESTRADA et al., 2013).

As anonáceas apresentam atividade inseticida devido à presença de acetogeninas, substâncias naturais bioativas encontradas exclusivamente nessa família. O gênero *Annona* é a principal fonte desta classe de compostos, uma vez que, das 417 acetogeninas conhecidas até 2004, 289 foram isoladas a partir de 20 espécies deste gênero (BERMEJO et al., 2005). O isolamento dessa classe de substâncias incentivou, a partir da década de 80, maiores estudos para investigar uma gama de atividades biológicas. Essas substâncias quando utilizadas contra insetos, atuam nas mitocôndrias, inibindo a NADH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo), o que causa a morte destes organismos (LÜMMEN, 1998). Dentre as diversas substâncias presentes nas anonáceas, como terpenos, alcaloides e flavonoides, as acetogeninas são relatadas como as mais importantes por apresentarem bioatividade contra diversas espécies de insetos (ALALI; LIU; MCLAUGHLIN, 1999). Estudos sobre o mecanismo de ação têm demonstrado que acetogeninas são os mais potentes inibidores da cadeia respiratória mitocondrial (BERMEJO et al., 2005).

Na literatura, são relatadas cerca de 42 espécies de Annonaceae com potencial inseticida, distribuídas em 14 gêneros, com destaque para as espécies *Annona muricata* L. (graviola) e *Annona squamosa* L. (fruta-do-conde, pinha) que atualmente são as espécies, dessa família, mais utilizadas para estudos de potencial inseticida (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014). Mesmo diante da diversidade de espécies de anonáceas conhecidas em todo mundo, percebe-se que apenas cerca de 2% dessas espécies possuem informações a respeito de seu potencial inseticida. Dessa forma, ainda há muito a pesquisar sobre esse grupo de plantas em relação ao conhecimento de suas propriedades inseticidas, bem como ampliar os estudos com outras espécies de artrópodes-praga ainda não estudados, uma vez que a maioria das pesquisas avalia, sobretudo, a bioatividade nas ordens de insetos Lepidoptera, Coleoptera e Hemiptera (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

Dentre as inúmeras espécies de anonáceas ainda não estudadas, *Annona vepretorum* Mart. merece destaque, uma vez que, não existe relatos na literatura científica sobre a atividade inseticida e acaricida de extratos e óleo essencial extraídos dessa espécie.

Annona vepretorum Mart. (Annonaceae) é uma espécie predominantemente tropical, endêmica do Brasil com distribuição na Caatinga (MAAS; LOBÃO; RAINER, 2016). É um arbusto ou árvore de 2,5-10 m de altura conhecida popularmente como “bruteira” (DUTRA et al., 2014), “araticum” (COSTA et al., 2011) e “pinha da caatinga” (DINIZ, 2013). Na literatura, são poucas as informações a respeito dessa espécie. Os trabalhos existentes estão relacionados principalmente com sua estrutura química e atividade farmacológica, como atividade antioxidante, citotóxica e antimicrobiana (ALMEIDA et al., 2014), estudo fitoquímico (ARAÚJO, 2013), composição química e bioatividade (COSTA et al., 2012), atividade antinociceptiva e anti-inflamatória (SILVA, 2013). Porém, não há relatos de estudos com uso dessa espécie como inseticida botânico.

Diante da potencialidade das anonáceas em apresentar bioatividade no controle de pragas e a necessidade de desenvolver alternativas aos acaricidas convencionais, a espécie *A. vepretorum* se apresenta como uma alternativa promissora a ser estudada com o propósito de aumentar a disponibilidade de produtos de origem vegetal e moléculas de plantas capazes de controlar pragas agrícolas, principalmente o ácaro rajado *T. urticae*.

3. REFERÊNCIAS

ALALI, F.Q.; LIU, X.X.; McLAUGHLIN, J.L. *Annonaceous acetogenins: recent progress*. **Journal of Natural Products**, Columbus, v.62, n.3, p.504- 40, 1999.

ALMEIDA, J.R.G. et al. Atividade antioxidante, citotóxica e antimicrobiana de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.36, p.258-264, 2014.

ÁLVAREZ, O. et al. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Pesticide Science**, Tokyo, v. 80, n.1, p.63- 67, 2007.

APRD. Arthropod Pesticide Resistance Database. Disponível em: <<http://www.pesticideresistance.org>>. Acessado em: 22 de março de 2016.

ARAÚJO, C. de S. **Estudo fitoquímico e atividade biológica *in vitro* de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae)**. 2013. 166f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2013.

ARAÚJO, M.J.C. **Potencial acaricida de óleos essenciais de espécies do gênero *piper* sobre o ácaro rajado *tetranychus urticae* koch (Acari: Tetranychidae)**. 2011. 51f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011.

BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, London, v.22, n.2, p.269-303, 2005.

CHATROU, L.W. et al. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 169, p. 5-40, 2012.

COELHO, M.B.; MARANGONI, S.; MACEDO, M.L. Insecticidal action of *Annona coriacea* lectin against the flour moth *Anagasta kuehniella* and the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). **Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology**, New York, v. 146, n.3, p.406-14, 2007.

COLLIER, K.F.S. et al. Estímulos olfativos envolvidos na localização de presas pelo ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) em macieiras e plantas hospedeiras alternativas. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, p.631-639, 2001.

COSME, L.V.; CARVALHO, G.A.; MOURA, A.P. Efeitos de inseticidas botânicos e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, p.251-258, 2007.

- COSSOLIN, J.F.S. et al. **Atividade inseticida de extratos de *Annona mucosa* e *A. crassiflora* sobre *Rhodnius neglectus* (Hemiptera: Reduviidae)**. In: CICLO DE ESTUDOS EM BIOLOGIA DE TANGARÁ DA SERRA, CICLO NACIONAL DE ESTUDOS DE BIOLOGIA, 2., 2011, Tangará da Serra. **Anais...** 2011.
- COSTA, E.V. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of aporphinoids and other alkaloids from the bark of *Annona salzmannii* A. DC. (Annonaceae). **Natural Product Research**, Roma, v.27, p.1002-1006, 2013.
- COSTA, E.V. et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). **Anais da 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2011.
- COSTA, E.V. et al. Essential Oil from the Leaves of *Annona vepretorum*: Chemical Composition and Bioactivity. **Natural Product Communications**, Westerville, v.7, n.2, p.265-266, 2012.
- CRUZ-CHACÓN, I. DE LA, et al. In: ALMEIDA, J.R.G.S.; OLIVEIRA JUNIOR, R.G.; OLIVEIRA, A.P. (Org.). **Annonaceae: tópicos especiais**. 1. Ed. – Curitiba, PR: CRV, 2015. Cap. 12.
- CRUZ-ESTRADA, A. et al. Insecticidal effects of plant extracts on immature whitefly *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyroideae). **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 16, n.1, 2013.
- DINIZ, T.C. et al. screening and central nervous system effects of ethanolic extract of *Annona vepretorum* (Annonaceae) in mice. **Journal of Medicinal Plant Research**, Nsukka, v.7, p.2729-2735, 2013.
- DINIZ, T.C **Toxicologia pré-clínica e avaliação do extrato etanólico bruto de *annona vepretorum* mart. (annonaceae) sobre o sistema nervoso central de roedores**. 2013. 115f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2013.
- DUTRA, L.M. et al. ent-Kaurane diterpenes from the stem bark of *Annona vepretorum* (Annonaceae) and cytotoxic evaluation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, La Jolla, v.24, p.3315–3320, 2014.
- GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.
- GERSON, U.; WEINTRAUB, P.G. Mites (Acari) as a factor in greenhouse management. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, v.57, p.47-229, 2012.
- GIONETTO, F.; CHÁVEZ, E.C. Desarrollo actual de las investigaciones alelopáticas de la producción de insecticidas botánicos en Michoacán (México). In: SIMPOSIO NACIONAL SOBRE SUBSTANCIAS VEGETALES Y MINERALES EN EL COMBATE DE PLAGAS, 6., 2000, Acapulco. **Memórias...** Acapulco: SME, 2000. p. 123-134.
- GRBIC, M. et al. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. **Nature**. 472: 487-492.

GUADAÑO, A. et al. Insecticidal and mutagenic evaluation of two annonaceous acetogenins. **Journal of Natural Products**, Columbus, v. 63, p.773-776, 2000.

ISMAN, M.B. A renaissance for botanical insecticides?. **Pest Management Science**, Oxford, v.71, p.1587–1590, 2015.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 45-66, 2006.

ISMAN, M.B. Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.25, p.339–344, 1997.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v.19, p.603-8, 2000.

ISMAN, M.B.; GRIENEISEN, M.L. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. **Trends in Plant Science**, v.19, p.140–145, 2014.

JUNIKKA, L.; KOEK-NOORMAN, J. Anatomical structure of barks in Neotropical genera of Annonaceae. **Annales Botanici Fennici**, Helsinki, v.44, p.79-132, 2007.

KARUNARATNE, M. M. S. C.; ARUKWATTA, A. P. K. M C. P. Efficacy of three plant species on the mortality and food consumption of *Epilachna vigintioctopunctata*. **Vidyodaya Journal of Science**, Nugegoda, v. 14, p.167-176, 2009.

KEMPRAJ, V.; BHAT, S.K. Acute and reproductive toxicity of *Annona squamosa* to *Aedes albopictus*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Amsterdam, v.100, p.82-86, 2011.

KIM, S.I. et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, Pamplona, v.39, p.293-303, 2003.

KIM, S.I. et al. Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). **Veterinary Parasitology**, v.120, p.297-304, 2004.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A. Nymphicidal effect of *Annona mucosa* and *A. crassiflora* extracts (Annonaceae) against *Tibraca limbativentris* (Pentatomidae). In: INTERNATIONAL CONGRESS & BRAZILIAN MEETING ABOUT ANNONACEAE: FROM GENE TO EXPORTATION, 5., 2013, Botucatu. **Proceedings...** Botucatu: Universidade Estadual, Instituto de Biociências, 2013. p. 180-183.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.36, p.225-242, 2014.

- LIMA, J.P.S. et al. In vitro antileishmanial and cytotoxic activities of *Annona mucosa* (Annonaceae). **Revista Virtual de Química**, Niterói, v.4, p.692-702, 2012.
- LIMA, L.A.R.S.; PIMENTA, L.P.S.; BOAVENTURA, M.A.D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. **Food Chemistry**, Reading, v.122, p.1129-1138, 2010.
- LONG, Z.; HOCK, S.; HUNG, S. Screening of Chinese medicinal herbs for bioactivity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Stored Products Research**, Pamplona, v.43, p.290–296, 2006.
- LÜMMEN, P. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.1364, n.2, p.287–296, 1998.
- MAAS, P.; LOBÃO, A.; RAINER, H. Annonaceae. In: LISTA de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB110219>>. Acesso em: 03 abr. 2016.
- MAGALHÃES, F.B. et al. Efeito do extrato hexânico de *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae) na mortalidade de ninfas do percevejo *Euschistus heros* F. (Heteroptera: Pentatomidae). In: CICLO DE ESTUDOS EM BIOLOGIA DE TANGARÁ DA SERRA, 2., CICLO NACIONAL DE ESTUDOS DE BIOLOGIA, 1., 2011. Tangará da Serra. **Anais...**
- MARRONE, P.G. Market opportunities for biopesticides. American Chemical Society, 246th National Meeting and Exposition. **Picogram**, Indiana, v. 84, p.104-105, 2013.
- MARTINEZ, S.S. O nim-Azadiracta indica: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, Instituto Agrônômico do Paraná, 2002, 142p.
- MENEZES, E.L.A. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p.
- MIKAMI, A.Y. **Mortalidade do percevejo *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) provocada por extratos de sementes de *Tephrosia* sp. (Fabaceae) e de anonáceas**. 2011. 61f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.
- MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M.B. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v.90, p.2015-2023, 2006.
- MORAES, G.J. 2002. Controle biológico de ácaros fitófagos com ácaros predadores, p. 225-237. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira &

J.M.S. Bento (eds.), Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. São Paulo, Manole, 635p.

MORAES, G.J. O ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) está se tornando um grave problema em diversas culturas. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v.28, p.10-12, 2001.

MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. Manual de acarologia: Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos, 2008. 308p.

NAVARRO-SILVA, M.A.; MARQUES, F.A.; DUQUE, J.E.L. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v.53, n.1, p.1-6, 2009.

OLIVEIRA JUNIOR, R.G. et al. Prospecção tecnológica do gênero *Annona* (Annonaceae). **Revista GEINTEC**, São Cristóvão, v.4, p.850-858, 2014.

OWUSO, D. O. **Effect of crude ethanolic leaf extract of soursop *Annona muricata* L.) on eggplant shoot and fruit borer (*Leucinodes orbonalis* guen.)**. 2012. 65f. Tese (Master of Science) - University of Cape Coast, Ghana, 2012.

PEIXOTO, M.F. et al. Amostragem do ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e eficiência de acaricidas no seu controle na cultura do algodoeiro irrigado. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.25, p. 24-32, 2008.

RAJENDRAN, S.; SRIRANJINI, V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of Stored Products Research**, v.44, p.126-135, 2008).

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Interações**, Belo Horizonte, v. 1, p.43-50, 2001.

SAITO, M.L. et al. Avaliação de plantas com atividade deterrente alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e *Anticarsia gemmatalis* Hubner. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 14, p.1-10, 2004.

SANTOS, L.A.R.; PIMENTA, L.P.S.; BOAVENTURA, M.A.D. Acetogeninas de anonáceas bioativas isoladas das sementes de *Annona cornifolia* A. St. Hil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 48-51, 2007.

SATO, M.E. et al. Management of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in strawberry fields with *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) and acaricides. *Experimental and Applied Acarology*, Northwood, v.42, p.107-120, 2007.

SATO, M.E. et al. Resistência de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) a acaricidas, em pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) em Paranapanema e

Jundiaí, SP. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.67, p.117-123, 2000.

SATO, M.E. et al. Toxicidade diferencial de agroquímicos a *Neseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em morangueiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, p.449-456, 2002.

SCHLÜTER, M. A. **Avaliação do potencial de extratos vegetais no controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner em campo**. 2006. 77f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

SIEBRA, C.A. et al. Potencial antiinflamatório de *Annona glabra*, Annonaceae. **Revista Brasileira Farmacognosia**, Curitiba, v.19, n.1, p.82-88, 2009.

SILVA, A.P.T.; PEREIRA, M.J.B.; BENTO, L.F. Extrato metanólico da semente de araticum (*Annona coriacea*) (MART.) sobre a mortalidade da traça-dotomateiro (*Tuta absoluta*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v. 2, n.2, p. 1150-1153, 2007.

SILVA, J.C. **Efeito antinociceptivo e anti-inflamatório de *annona vepretorum* mart. (annonaceae) em roedores**. 2013. 181f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2013.

SILVA, M.A.; PARRA, J.R.P.; CHIAVEGATO, L.G. Biologia comparada de *Tetranychus urticae* em cultivares de algodoeiro. I: Ciclo biológico. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.20, p.741-748, 1985.

SIMÕES, C.M.O. et al. 2002. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4.ed. PortoAlegre: Ed. Universidade/UFRS.

SOUZA, E. M.; CORDEIRO, J. R.; PEREIRA, M. J. B. Avaliação da atividade inseticida dos diferentes extratos das sementes de *Annona coriácea* sobre *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851). In: Resumos do V CBA - Manejo de Agroecossistemas Sustentáveis. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v.2, n.2, p.1107-1110, 2007.

SREELETHA, C.; GEETHA, P. R. Pesticidal effects of *Annona squamosa* L. on male *Oryctes rhinoceros* Linn. (Coleoptera: Scarabaeidae) in relation to reproduction. **Current Biotica**, New Delhi, v. 6, n.1, p.8-21, 2012.

SREELETHA, C.; GEETHA, P.R. Pesticidal effects of *Annona squamosa* L. on male *Oryctes rhinoceros* Linn. (Coleoptera: Scarabaeidae) in relation to reproduction. **Current Biotica**, New Delhi, v.6, n.1, p.8-21, 2012.

STUMPF, N.; NAUEN, R. Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v.94, p.1577-1583, 2001.

TRINDADE, R.C.P. et al. Larvicidal activity and seasonal variation of *Annona muricata* (Annonaceae) extract on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v.37, n.2, p.223-227, 2011.

UDDIN, M.N. et al. Life table parameters of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on different bean varieties. **African Entomology**, v.23, n.2, p. 418-426, 2015.

VAN DE VRIE, M.; MURTRY, J.A.; HUFFAKER, C.B. Ecology of mites and their natural enemies. A review III Biology, ecology, and pest status, and host plant relations of Tetranychids. **Hilgardia**, Berkeley, v.41, p.354-432, 1972.

VAN LEEUWEN, T. et al. Organophosphate insecticides and acaricides antagonise bifenthrin toxicity through esterase inhibition in *Tetranychus urticae*. **Pest Management Science**, Malden, v.63, p.1172–1177, 2007.

VAN LEEUWEN, T. et al. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Sophia Antipolis, v.40, p.563-572, 2010.

VASANTHARAJ, D.B. Biotechnological approaches in IPM and their impact on environment. **Journal of Biopesticides**, Tamilnadu, v.1, n.1, p.1-5, 2008.

VENDRAMIM, J.D.; SCAMPINI, P.J. Efeito do extrato aquoso de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em dois genótipos de milho. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.72, p.159-170, 1997.

WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. 2008. Analysis of global pesticide resistance in arthropods, p. 5-31. In: WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; R.M. HOLLINGWORTH (eds.), **Global pesticide resistance in arthropods**. Cambridge, CAB International, 2008p.

WIESBROOK, M. L. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, Urbana, v.17, n.3, p.1-8, 2004.

4. BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE *Annona vepretorum* (ANNONACEAE) SOBRE *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)¹

RESUMO – O uso indiscriminado de pesticidas sintéticos no controle do ácaro *Tetranychus urticae* Koch tem acarretado uma série de problemas. Nos últimos anos, extratos vegetais têm sido bastante explorados como uma alternativa promissora e menos agressiva. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial acaricida, através de efeitos letais e subletais, do extrato metanólico e hexânico de folhas de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae) sobre *T. urticae*. A toxicidade do extrato metanólico foi avaliada através do contato direto e contato residual sobre as fêmeas, nas concentrações de 0,9; 1,9; 3,7; 7,5; 15; 30 e 60 mg/mL, as quais foram aplicadas através de torre de Potter (contato direto) e imersão dos discos (contato residual). Para avaliar a toxicidade do extrato hexânico, as concentrações (6,2; 12,5; 25; 50 e 100 mg/mL) foram aplicadas através da imersão de discos de folha de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.), por 5 segundos. Para avaliar os efeitos subletais, foi aplicada sobre as fêmeas a CL₅₀ do extrato metanólico obtida no teste de toxicidade por contato direto. O teste de dupla escolha avaliou a preferência do ácaro para alimentação e oviposição entre o controle e as concentrações (1,9; 3,7; 7,5; 15 e 30 mg/mL) do extrato metanólico e hexânico. A estimativa da CL₅₀ do extrato metanólico foi de 10,96 mg/mL para o efeito de contato direto e 22,07 mg/mL para o efeito de contato residual. A CL₅₀ estimada para o extrato hexânico foi de 50,61 mg/mL. A CL₅₀ do extrato metanólico interferiu na fecundidade e longevidade das fêmeas, diferindo significativamente do controle. No teste de dupla escolha, 82 a 99% de *T. urticae* preferiu o controle para alimentação e 84 a 100% para oviposição. Os resultados indicam que *A. vepretorum* tem poder acaricida e revela ser uma fonte botânica de potencial no controle de *T. urticae*.

PALAVRAS-CHAVE: Ácaro rajado. Biopesticidas. Controle alternativo.

¹FERNANDES, M.H.A.; MENEZES, K.O.; SOUZA, A.M.; ALMEIDA, J.R.G.; OLIVEIRA, J.E.M.; GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.R. Bioatividade de extratos orgânicos de *Annona vepretorum* (Annonaceae) sobre *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). A ser submetido.

**BIOACTIVITY OF ORGANIC EXTRACTS OF *Annona vepretorum*
(ANNONACEAE) ON *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)**

ABSTRACT – The indiscriminate use of synthetic pesticides to control the *Tetranychus urticae* Koch mite has caused countless problems. In the last years, plant extracts have been widely explored as a promising alternative and less aggressive. The purpose of this study was to evaluate the acaricide potential through lethal and sublethal effects of the methanol and hexane extract of *Annona vepretorum* Mart leaves (Annonaceae) on *T. urticae*. The toxicity of methanol extract was evaluated through direct contact and residual contact on females at concentrations of 0.9; 1.9; 3.7; 7.5; 15; 30 and 60 mg/ml, which were applied through Potter tower (direct contact) and immersion of the disks (residual contact). To evaluate the toxicity of hexane extract, the concentrations (6.2, 12.5, 25, 50 and 100 mg/mL) were applied through immersion of leaf discs of pork beans (*Canavalia ensiformes* L) for 5 seconds. To evaluate the sublethal effects, it was applied in the females the LC₅₀ of the methanol extract obtained on toxicity test by direct contact. The dual choice test has assessed the mite's preference for food and oviposition between control and concentrations (1.9, 3.7, 7.5, 15 and 30 mg/mL) of methanol and hexane extract. The estimate of the LC₅₀ of the methanol extract was 10.96 mg/mL for direct contact effect and 22.07 mg/mL to residual contact effect. The estimated LC₅₀ for the hexane extract was 50.61 mg/mL. The CL₅₀ of the methanol extract interferes in the fecundity and longevity of females, differing of control significantly. In the dual choice test, 82 to 99% of *T. urticae* has preferred the control for food and 84 to 100% for oviposition. The results indicate that *A. vepretorum* has acaricide power and reveals to be a potential botanical source in the control of *T. urticae*.

KEY WORDS: Two-spotted spider mite. Biopesticides. Alternative control.

INTRODUÇÃO

O ácaro *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) é considerado uma das espécies mais polífaga, dentre os ácaros fitófagos, e apontado como uma praga-chave para muitas culturas (ROH et al., 2011), anuais e perenes, tais como tomate, pepino, morango, milho, soja, maçã, uva e citros (GRBIC et al., 2011). Em altas infestações esse ácaro, pode causar clorose, necrose nas folhas, perda da capacidade fotossintética e, conseqüentemente, redução da produtividade (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O controle de *T. urticae* é realizado, principalmente por meio da aplicação de acaricidas sintéticos (VAN LEEUWEN et al., 2010). Porém, o uso excessivo de produtos químicos tem sido bastante questionado nos últimos anos, principalmente por ser uma prática que ocasiona sérios problemas, como contaminação ambiental e toxicidade aos mamíferos, além de promover elevada mortalidade de inimigos naturais (SILVA et al., 2006) e o rápido desenvolvimento de populações resistentes (NICASTRO; SATO; SILVA, 2010). O ácaro *T.urticae* se destaca como um dos artrópodes mais resistentes a acaricidas/inseticidas sintéticos (WHALON; MOTA-SANCHEZ; HOLLINGWORTH, 2008), com registro de resistência a 94 ingredientes ativos diferentes (APRD, 2016).

Uma alternativa promissora ao emprego de acaricidas sintéticos é a utilização de pesticidas botânicos. Estes produtos de origem vegetal estão sendo bastante estudados para fins de controle de pragas agrícolas, principalmente por apresentarem compostos biodegradáveis, serem menos agressivos ao meio ambiente, pouco tóxicos às espécies não alvo e, ainda, evitarem ou retardarem o aparecimento de indivíduos resistentes (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

Entre as plantas com atividade inseticida/acaricida já estudadas, a família Annonaceae tem se destacado e atraído a atenção de muitos pesquisadores desde o ano de 1980. Esse fato está relacionado à descoberta das acetogeninas, uma classe de produtos naturais exclusiva dessa família, que promovem uma série de atividades biológicas, destacando-se a atividade inseticida (OCAMPO; OCAMPO, 2006). As acetogeninas bloqueiam a cadeia respiratória em NADH-Ubiquinona redutase (complexo I) e causa um

decréscimo nos níveis de ATP, afetando diretamente o transporte de elétrons nas mitocôndrias (ALALI; LIU; MCLAUGHLIN, 1999).

Uma das formas de se conhecer e avaliar as propriedades inseticidas das plantas é por meio do uso de extratos, que podem variar desde o extrato aquoso (BOBADILLA et al., 2005) até extratos obtidos com solventes de diferentes polaridades (BOBADILLA et al., 2002). Os solventes usados para a extração das acetogeninas podem ser água (PÉREZ-PACHECO et al., 2004), etanol (BOBADILLA et al., 2002), acetona (KHALEQUZZAMAN; SULTANA, 2006), clorofórmio (PARVIN et al., 2003), éter de petróleo (ALVAREZ et al., 2008) e hexano (FONTANA et al., 1998). Dessa forma, pode-se compreender que as acetogeninas podem variar desde muito polares, tais como as extraídas pela água e etanol, até não polares, aquelas que são extraídas por hexano (CASTILLO-SÁNCHEZ et al., 2010).

Nos últimos anos, extratos brutos de sementes, folhas, cascas, galhos e frutas de Annonaceae têm sido amplamente testados para verificar bioatividade em vários grupos de artrópodes, tanto de importância agrícola quanto médica (ISMAN; SEFFRIN, 2014). Seus efeitos nos artrópodes incluem mortalidade, redução na fecundidade e fertilidade, inibição na oviposição, deterrência e repelência. (ISMAN, 2006; OLIVEIRA; PEREIRA, 2009; CARNEIRO; PEREIRA; GALBIATI, 2011) A bioatividade desses extratos, porém, pode variar significativamente em função da espécie e do solvente utilizado na extração (SHAALAN et al., 2005).

A família Annonaceae compreende um grande número de gêneros e espécies, sendo a maioria nativa de regiões tropicais ou subtropicais. No Brasil, são registrados 29 gêneros, abrangendo aproximadamente 392 espécies (MAAS; LOBÃO; RAINER, 2016). Muitas dessas, principalmente as do gênero *Annona*, já foram amplamente investigadas para controle de pragas (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014). Porém, para tal finalidade, não foram encontrados relatos de estudos do potencial da espécie *Annona vepretorum* Mart. Esta é uma espécie endêmica do Brasil, conhecida popularmente como “araticum” e “pinha da caatinga”, amplamente distribuída na região da Caatinga e por todo o semiárido brasileiro. É um arbusto que apresenta flores amarelas e perfumadas, folhas coriáceas, glabras com frutos muricados e verdes (DINIZ, 2013).

Como não há estudos disponíveis sobre a bioatividade dessa espécie e considerando o potencial de plantas da família Annonaceae, enquanto fonte de inseticidas botânicos, e a necessidade de encontrar alternativas aos acaricidas convencionais, este trabalho teve como objetivo avaliar a bioatividade dos extratos orgânicos, hexânico e metanólico, de *A. vepretorum* sobre o ácaro *T. urticae* em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

O processo para obtenção dos extratos foi realizado no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) e os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Semiárido.

Material vegetal. As folhas de *A. vepretorum* foram coletadas no mês de junho de 2015 em área de caatinga no campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco (latitude 09°19'37,50" longitude 040°33'01,40" e altitude 385 m). A exsicata da espécie está depositada no Herbário Vale do São Francisco (HVASF) na Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) sob o número #18350.

Obtenção dos extratos de *A. vepretorum*. As folhas foram acondicionadas em saco de papel Kraft e postas para secar em estufa com ar circulante à temperatura média de 40°C durante 72 horas. Após a secagem e completa estabilização (eliminação de água e inativação de enzimas), realizou-se a moagem do material em moinho de facas para a obtenção do pó de baixa granulometria. A partir de 1.148 g de folhas frescas foi obtido 448 g de pó seco.

Para o preparo dos extratos, o pó foi macerado em hexano em percolador de aço inoxidável, durante 72 horas, e posteriormente filtrado utilizando algodão hidrófilo. Ao resíduo foi adicionado mais hexano, sendo esse procedimento repetido seis vezes para garantir um bom rendimento da extração. A fase líquida foi submetida à evaporação do solvente com o auxílio de um rotavapor a 50°C sob pressão reduzida. Após esse procedimento, o extrato hexânico foi colocado em frasco de vidro, previamente pesado e etiquetado, e acondicionado aberto em capela para evaporação máxima do solvente. Após a obtenção do extrato hexânico, sobre a torta resultante da extração com hexano, foi realizado a extração com metanol seguindo a mesma

metodologia anterior, sendo modificando apenas o solvente. Ao final, foram obtidas 14,25 g de extrato hexânico e 43,53 g de extrato metanólico, os quais foram mantidos em refrigerador a, aproximadamente, 2 a 8 °C.

Criação do ácaro *T. urticae*. Os ácaros utilizados para os ensaios foram oriundos da criação estabelecida no laboratório de Entomologia da Embrapa Semiárido. Os ácaros foram criados em plantas de feijão-de-porco, *Canavalia ensiformes* L. (Leguminosae), sob temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Essas mesmas condições foram adotadas na condução de todos os experimentos.

Toxicidade do extrato metanólico. Foram realizados pré-testes com algumas concentrações para determinar valores que causassem aproximadamente 100% de mortalidade, sendo assim possível determinar uma curva de concentração. O extrato metanólico foi solubilizado em água destilada e acetona (10%). As concentrações testadas foram 0,9; 1,9; 3,7; 7,5; 15; 30 e 60 mg/mL. Utilizou-se como controle água destilada e acetona (10%). O acaricida Diafentiurom (Polo[®] 500 SC, Syngenta S.A) na concentração de 2 mg/mL foi utilizado como controle positivo.

A toxicidade do extrato metanólico foi avaliada através do contato direto desse extrato sobre os ácaros e do contato residual. Inicialmente, foram confeccionadas arenas a partir de placas de Petri (9 cm) contendo uma esponja de polietileno umedecida com água e sobre esta, um disco de papel de filtro nas mesmas dimensões. Para os testes de contato direto, discos de folhas de feijão-de-porco de 3 cm de diâmetro foram colocados sobre as arenas com as bordas cobertas com pedaços de papel toalha para evitar a fuga dos ácaros. Em seguida, 10 fêmeas adultas de *T. urticae* foram transferidas para os discos de folha com um auxílio de um pincel (n°000). Foi realizada a aplicação de 2 mL por disco de folha de cada concentração do extrato e do controle, através de torre de Potter a uma pressão de 5 psi/pol². Para avaliar a toxicidade por contato residual, as aplicações foram realizadas através da imersão de discos de folha de feijão-de-porco (3 cm), por 5 segundos, em um Becker que continha o controle (água destilada e acetona) e as concentrações do extrato. Em seguida, os discos foram acondicionados nas arenas. Após a secagem do solvente, por volta de uma hora, as bordas dos discos foram cobertas com pedaços de papel toalha para evitar a fuga dos ácaros e, logo após, foram transferidas 10 fêmeas adultas para cada disco tratado.

Nos dois experimentos foram igualmente realizadas 15 repetições por concentração, totalizando 150 ácaros por tratamento. As placas de Petri foram mantidas em câmara climatizada (B.O.D.) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Diariamente, nessas placas era adicionada água para manter a turgescência do disco de folha. Com auxílio de microscópio estereoscópio, foi avaliada a mortalidade dos ácaros após 24, 48 e 72 horas da pulverização, sendo considerados mortos, aqueles que não conseguiam se mover a uma distância equivalente ao comprimento de seu corpo, quando tocados com o pincel.

As concentrações letais (CLs) foram estimadas pela análise de Probit (Finney 1971) através do programa Polo-PC (LeOra Software 1989). Os valores da CL_{50} e CL_{90} foram estabelecidos com a mortalidade obtida com 72 horas de avaliação. Os dados da mortalidade acumulada obtidos ao longo das avaliações 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 do extrato hexânico. Foram realizados pré-teste para determinar uma curva de concentrações. Para condução desse bioensaio, foram confeccionadas arenas semelhantes às descritas no teste anterior. As concentrações do extrato hexânico utilizadas foram de 6,2; 12,5; 25; 50 e 100 mg/mL, as quais foram solubilizadas apenas em acetona, pois devido as características físico-químicas desse extrato, apenas a acetona apresentou melhor capacidade de solubilização. A aplicação foi realizada através da imersão de discos de folha de feijão-de-porco de 3 cm de diâmetro, por 5 segundos, em um Becker contendo o controle (acetona) e as concentrações do extrato. Após a imersão, os discos foram colocados sobre o papel de filtro nas arenas, onde permaneceram secando a temperatura ambiente, por aproximadamente uma hora. As bordas do disco foram cobertas com pedaços de papel toalha para evitar a fuga dos ácaros. Nas placas foram adicionadas água para manter a turgescência do disco foliar. Para cada unidade experimental, constituída por uma placa de Petri, foram transferidas 10 fêmeas adultas de *T. urticae*. Foram realizadas 15 repetições por tratamento, totalizando 150 ácaros. As avaliações foram realizadas após 24, 48 e 72 horas da imersão dos discos, contando-se o número de fêmeas mortas.

As concentrações letais (CLs) foram estimadas pela análise de Probit (Finney 1971) através do programa Polo-PC (LeOra Software 1989). Os valores da CL₅₀ e CL₉₀ foram estabelecidos com a mortalidade obtida com 72 horas de avaliação.

Efeito subletal do extrato metanólico sobre parâmetros reprodutivos. Para avaliar os efeitos subletais do extrato sobre as fêmeas de *T. urticae*, foi utilizada a CL₅₀ (10,96 mg/mL) obtida anteriormente no teste de verificação do efeito de contato do extrato metanólico. Em cada arena, confeccionada a partir de placa de Petri (9 cm), foram colocados três discos foliares (2 cm) e uma fêmea sobre cada um deles para ovipositar por um período de 24 horas. Em seguida, as fêmeas e o excesso de ovos foram retirados, deixando apenas três ovos por disco. Após a eclosão dos ovos, apenas um indivíduo foi escolhido para ser acompanhado até a fase adulta. Esse procedimento foi necessário para que todas as fêmeas utilizadas nesse teste tivessem a mesma idade. Foram realizadas aplicações via torre de Potter de 2 mL por placa do extrato na concentração correspondente à CL₅₀ e do tratamento controle, composto por água destilada e acetona (10%). As aplicações ocorreram sobre fêmeas com aproximadamente dois dias de idade adulta. Após a aplicação, um macho proveniente da criação de manutenção foi liberado em cada disco, tomando-se o cuidado de que o mesmo fosse substituído em caso de morte. Para cada tratamento foram utilizadas 41 fêmeas, sendo cada uma considerada uma repetição. As avaliações de fecundidade, viabilidade de ovo e longevidade das fêmeas foram realizadas diariamente. Para acompanhar a viabilidade dos ovos, arenas foram preparadas com discos foliares identificados de acordo com o número de cada fêmea. Os ovos colocados pelas fêmeas eram contados e, posteriormente, transferidos cuidadosamente com auxílio de um pincel fino para suas respectivas arenas. Essas arenas eram avaliadas diariamente e, caso houvesse ninfas, essas eram contadas e descartadas. A data da mortalidade das fêmeas foi registrada para determinar a longevidade das mesmas.

Os dados foram analisados através do teste t de Student, a 5% de probabilidade, comparando-se as médias observadas nos dois tratamentos. Utilizou-se o programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

Teste de dupla escolha. Os bioensaios foram realizados com os dois extratos orgânicos, hexânico e metanólico, nas mesmas concentrações (1,9;

3,7; 7,5; 15 e 30 mg/mL). O extrato hexânico foi solubilizado apenas em acetona, enquanto o extrato metanólico em água destilada e acetona (10%). Discos de folha de feijão-de-porco, com 5 cm de diâmetro, foram divididos em áreas iguais com um espaço neutro de 0,3 cm entre elas. Uma das áreas foi imersa por 5 segundos na solução controle, contendo apenas acetona nos testes com extrato hexânico e a outra área foi imersa na solução preparada do extrato. Nos testes com o extrato metanólico uma das áreas foi imersa em água destilada e acetona (10%) e a outra área foi imersa na solução preparada a partir do extrato diluído. Em seguida, os discos foram dispostos individualmente em papel de filtro sobre uma espuma de polietileno umedecida com água e mantidos em placas de Petri (9 cm). Os discos tratados permaneceram durante um período de uma hora ao ar livre para a completa evaporação do solvente. As bordas dos discos foram cobertas com pedaços de papel toalha para evitar a fuga dos ácaros. Em seguida, 10 fêmeas adultas do ácaro foram liberadas no centro de cada disco, na área neutra. Para cada tratamento foram realizadas 15 repetições, totalizando 150 ácaros por tratamento. As avaliações foram realizadas após 24 horas, contando-se o número de ácaros e ovos nas áreas tratadas e não tratadas do disco.

Os resultados foram submetidos à análise de frequência de escolha e avaliados pelo teste qui-quadrado, mediante o programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos indicam que extratos orgânicos de *A. vepretorum* são capazes de causar níveis elevados de mortalidade em *T. urticae*. Essa bioatividade observada nos extratos pode estar relacionada à presença de metabólicos secundários, conhecidos como acetogeninas, presentes em espécies de plantas da família Annonaceae. Nos artrópodes, as acetogeninas bloqueiam a cadeia respiratória em NADH-Ubiquinona redutase (complexo I) e causa um decréscimo nos níveis de ATP, afetando diretamente o transporte de elétrons nas mitocôndrias (ALALI; LIU; MCLAUGHLIN, 1999).

O extrato metanólico das folhas de *A. vepretorum* foi considerado nesse estudo o mais tóxico para *T. urticae*. A aplicação direta sobre as fêmeas, para avaliar o efeito de contato, foi mais tóxica (CL₅₀ 10,96 mg/mL) do que a

aplicação para avaliar o efeito residual do extrato (CL₅₀ 22,07 mg/mL). A CL₅₀ estimada para o extrato hexânico foi de 50,61 mg/mL. Dessa forma, quando comparado às estimativas das CL₅₀ e CL₉₀ dos dois extratos orgânicos, verifica-se que o extrato metanólico é bem mais tóxico que o extrato hexânico (Tabela 1).

Tabela 1. Toxicidade por contato direto e contato residual dos extratos, metanólico e hexânico, de folhas de *Annona vepretorum* sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae* após 72 horas de exposição.

Extratos	N ¹	GL ²	Inclinação ± EP ³	CL ₅₀ ⁴ (IC 95%)	CL ₉₀ (IC 95%)	χ ² ⁵
Metanólico (contato) ⁶	1030	5	3,03 ± 0,29	10,96 (7,16-14,19)	29,04 (21,78-51,06)	15,47
Metanólico (residual) ⁷	1025	5	2,44 ± 0,22	22,07 (18,07-26,39)	73,79 (56,33-112,10)	5,91
Hexânico (residual)	719	3	4,18 ± 0,52	50,61 (30,13-65,59)	102,54 (76,72-264,15)	7,49

FONTE: FERNANDES, M.H.A.

¹Número total de ácaros usados nos bioensaios.

²Gráus de liberdade para teste de qui-quadrado.

³Inclinação da reta e erro padrão da média.

⁴Concentração letal (mg/mL) e intervalo de confiança a 95%.

⁵Valor de qui-quadrado.

⁶Efeito de contato direto sobre as fêmeas.

⁷Efeito de contato residual.

Neste estudo, utilizaram-se dois solventes com polaridades distintas na extração dos compostos de *A. vepretorum*, pois se pressupõe que as acetogeninas presentes nas anonáceas podem variar de muito polar, tal como aquelas extraídas pela água, álcool etílico e metanol a não polares como as extraídas pelo hexano (BOBADILLA et al. 2005). Porém, há evidências de que os extratos obtidos com solventes de baixa e média polaridade são mais eficientes.

Kamaraj et al. (2011) utilizaram extratos da casca de *Annona squamosa* a partir de diferentes solventes (hexano, clorofórmio, acetato de etila, acetona e metanol) para avaliar a atividade larvicida sobre *Anopheles subpictus* Grassi e *Culex tritaeniorhynchus* Giles (Diptera: Culicidae). Todos os extratos

apresentaram efeitos moderados, no entanto, o extrato metanólico se mostrou mais tóxico para as duas espécies avaliadas, apresentando para *A. subpictus* CL_{50} 93,80 mg/L e 104,94 mg/L para *C. tritaeniorhynchus*. Concentrações maiores do extrato hexânico de semente *Annona muricata* foram necessárias para causar a mortalidade de 50% da população de *T. urticae* em relação ao extrato etanólico (MACIEL, 2014). Em outro estudo, realizado por Rodrigues et al. (2006), mostra que para *Aedes Aegypti* a CL_{50} do extrato etanólico da casca do caule de *Annona crassiflora* foi de 23,06 µg/mL, enquanto que a CL_{50} do extrato hexânico foi de 264,15 µg/mL.

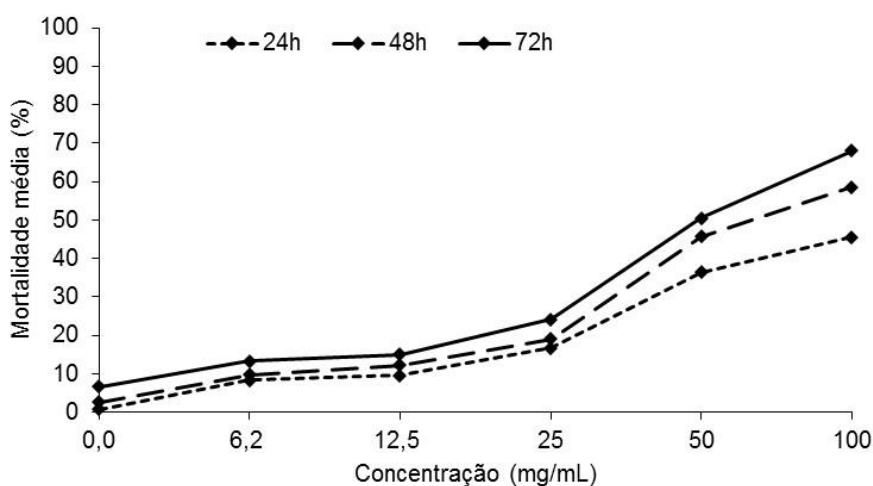
Potenza et al., (2005) trabalhando com extrato hexânico, etanólico e aquoso de folhas de várias espécies de plantas, dentre elas uma espécie de anonácea, *A. squamosa*, afirmou que o tipo de solvente usado na extração interferiu na eficiência dos produtos naturais para o controle do ácaro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) devido ao fato dos solventes utilizados extraírem diferentes grupos de substâncias químicas, de acordo com a polaridade dos mesmos.

Além do mais, a biotividade dos extratos de plantas ainda pode variar de acordo com a espécie e a estrutura vegetativa da planta. (SHAALAN et al. 2005). É comum que diferentes partes da planta manifestem diferenças qualitativas e quantitativas em relação aos seus constituintes químicos (BERNAYS; CHAPMAN, 1994). As acetogeninas, são encontrados em folhas, galhos, raízes e principalmente em sementes das anonáceas (BERMEJO et al., 2005; SILVA; PEREIRA; BENTO, 2007; CASTILLO-SÁNCHEZ et al., 2010; RIBEIRO et al., 2013). Dessa forma, presume-se que utilizando outras estruturas de *A. vepretorum*, como sementes, podem-se obter resultados ainda mais satisfatórios, com doses letais menores. Esta hipótese pode ser aceita devido aos resultados obtidos por Maciel et al. (2015), que investigou extratos de sementes de *A. muricata* e mostrou que a CL_{50} para *T. urticae* foi de 3,29 mg/mL.

Neste trabalho, os ensaios de toxicidade por contato direto e contanto residual mostraram que houve 100% de mortalidade das fêmeas de *T. urticae* após 48 horas da aplicação do acaricida sintético Diafentiurom (2mg/mL), enquanto que com o extrato metanólico e hexânico de *A. vepretorum* a mortalidade dos ácaros aumentou em função do tempo de avaliação e da concentração desses extratos (Figuras 1 e 2). Percebe-se que o extrato

metanólico foi mais tóxico aos ácaros, pois apresentou, na avaliação de 72 horas, 90% de mortalidade por contato residual na concentração de 60 mg/mL (Figura 2B). Já o extrato hexânico atingiu apenas 68% de mortalidade com uma concentração maior (100 mg/ml) no mesmo período de avaliação (Figura 1).

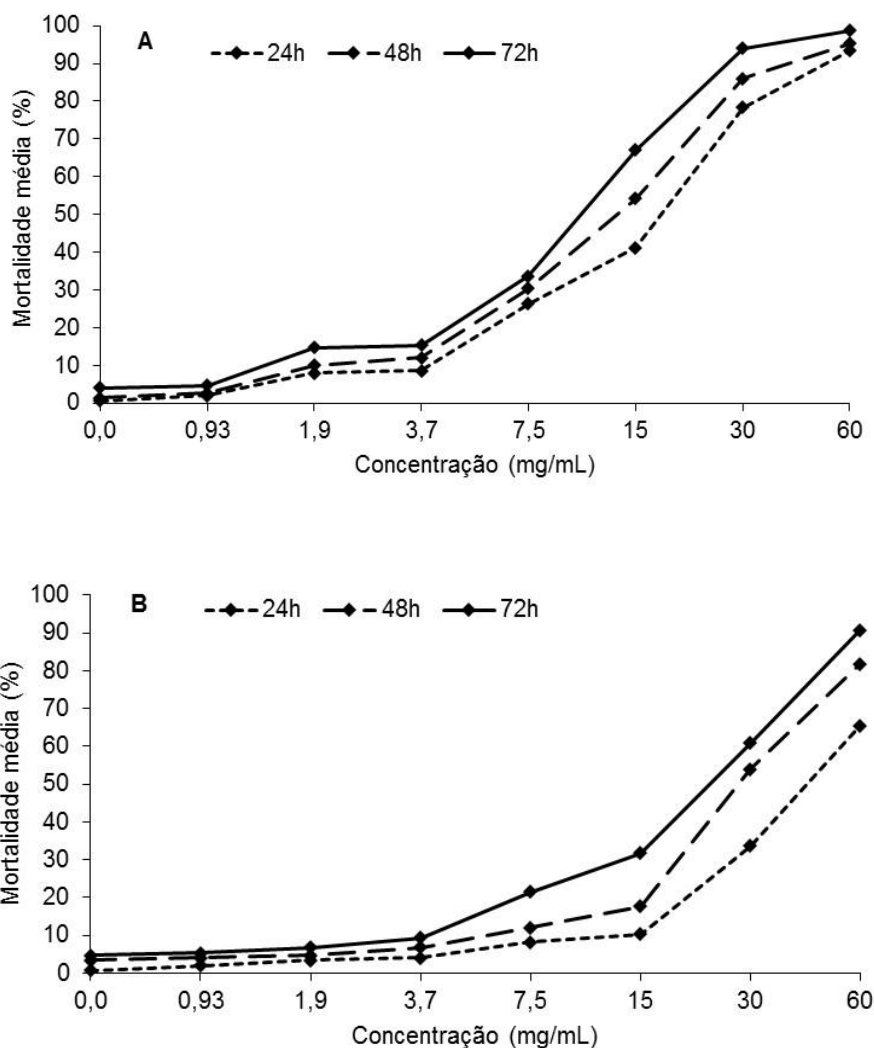
Figura 1. Mortalidade de *Tetranychus urticae* em diferentes tempos de avaliação (horas) por efeito de contato residual do extrato hexânico de folhas de *Annona vepretorum*.



FONTE: FERNANDES, M.H.A.

Com 72 horas, na maior concentração utilizada (60 mg/mL) do extrato metanólico, a mortalidade por contato direto foi de 98% e por contato residual foi de 90%. Essa mortalidade avaliada após 72 horas indicou que não houve uma diferença tão expressiva entre as metodologias de aplicação (contato direto e contato residual). Entretanto, a toxicidade do extrato por contato direto agiu de forma mais rápida, pois nas primeiras 24 horas de avaliação apresentou índice de mortalidade de 93%, enquanto que por contato residual essa mortalidade foi de apenas 65%, no mesmo período. Esse efeito que garantiu uma mortalidade mais rápida pode ter ocorrido devido o extrato ter sido aplicado sobre o acaro e o alimento (disco de folha), podendo-se presumir que o ambiente estava totalmente saturado, dificultando ao máximo que esta praga escapasse da ação do extrato. Além disso, nesse caso, a ação do extrato pode ter ocorrido de forma simultânea, por ingestão e contato, penetrando no corpo do ácaro através da cutícula.

Figura 2. Mortalidade de *Tetranychus urticae* em diferentes tempos de avaliação (horas) por efeito de contato direto (A) e contato residual (B) do extrato metanólico de folhas de *Annona vepretorum*.



FONTE: FERNANDES, M.H.A.

Outro estudo avaliou a toxicidade por contato direto e contato residual de extrato metanólico de seis espécies de plantas famílias Asteraceae, Solanaceae, Verbenaceae e Apiacea em *T. urticae*. Os resultados mostraram que houve uma mortalidade muito superior nos tratamentos quando foi avaliada a toxicidade por contato. Observou-se que o tratamento com o extrato de *Baccharis tola* (Asteraceae) na concentração de 2,5% provocou uma mortalidade de 94% em teste por contato direto, enquanto que por contato residual a concentração de 10% causou apenas 23% de mortalidade (MERCADO; CHUNG; MESINA, 2014). Alguns autores argumentam que a ação por contato é mais rápida do que a ação por ingestão, pois este último

para agir sobre o organismo alvo depende do processo de digestão para incorporação e ação nos sistemas vitais da praga (KATHRINA; ANTONIO, 2004; AGUIAR-MENEZES, 2005; ISMAN 2006).

Uma grande variedade de espécies de plantas, na forma de extrato, mostrou ser tóxica para *T. urticae*, como: extratos aquosos de *Dieffenbachia brasiliensis* (Araceae), *Ruta graveolens* (Rutaceae) e *Allium cepa* (Alliaceae) (POTENZA et al., 2006); extrato etanólico de *Datura stramonium* (Solanaceae) (KUMRAL; ÇOBANOGLU; YALCIN, 2010); extrato etanólico de *Croton sellowii* (Euphorbiaceae) (PONTES et al., 2011); extrato etanólico e hexânico de *Syzygium cumini* (Myrtaceae) (AFIFY et al., 2011); extrato metanólico de *Ammi visnaga* (Apiaceae) (PAVELA, 2015) e extrato etanólico e hexânico de *Annona muricata* (Annonaceae) (MACIEL et al., 2015);

Os metabólicos secundários de plantas agem de diversas formas sobre os artrópodes, além de causar mortalidade, podem provocar repelência, inibição de oviposição e da alimentação, distúrbios no desenvolvimento, deformações e infertilidade (ROEL, 2001). Por esses motivos, esse trabalho avaliou os efeitos subletais da CL₅₀ do extrato metanólico de *A. vepretorum* e verificou-se que em dois parâmetros analisados, fecundidade e longevidade, houve efeito negativo do extrato quando comparado com a testemunha.

O número de ovos por fêmea no tratamento controle foi em média 54,95 e no tratamento com o extrato foi em média 22,85 ovos. A inibição da oviposição ou a redução do número de ovos são importantes efeitos de extratos vegetais sobre a reprodução dos artrópodes (COSTA; SILVA; FIUZA, 2004). Entende-se que quando esse indivíduo é incapaz de alimentar-se da folha tratada, o número de os ovos deve ser reduzido como uma resposta ao estresse provocado pelo extrato (PONTES et al., 2011). Quando comparada a viabilidade de ovos nos dois tratamentos, constatou-se que não houve diferença significativa, pois, o tratamento controle apresentou 87,80% de viabilidade e no tratamento com o extrato esse índice foi de 88,66%. Quanto à longevidade das fêmeas, no tratamento controle estas viveram em média 15,41 dias, enquanto no tratamento com o extrato esse número caiu para 6,92 dias (Tabela 2). A diferença observada na longevidade das fêmeas pode estar relacionada à nutrição do ácaro, que o faz reduzir seu tempo de vida quando exposto ao extrato.

Tabela 2. Efeitos subletais (Média \pm EP) da CL₅₀ (10,96 mg/mL) do extrato metanólico de folhas de *Annona vepretorum* sobre fêmeas adultas de *Tetranychus urticae*.

Tratamento	Número de ovos/fêmea	Viabilidade de ovos (%)	Longevidade das fêmeas (dias)
Controle	54.95 \pm 2.36 a ¹	87.80 \pm 0.99 a	15.41 \pm 0.78 a
DL50	22.85 \pm 3.07 b	88.66 \pm 1.76 a	6.92 \pm 0.70 b
T	8.27	0.42	8.02
P<	0.0001	0.6753	0.0001

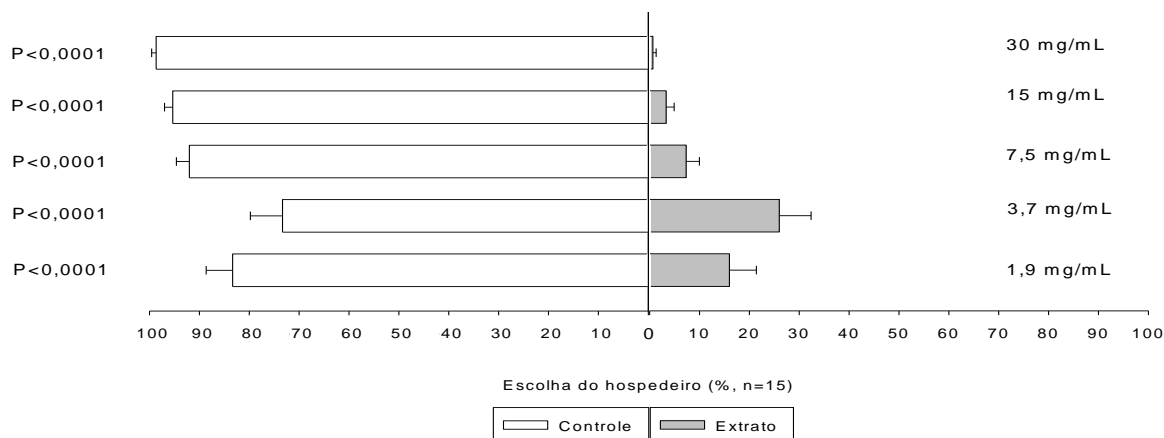
FORTE: FERNANDES, M.H.A.

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste T (P<0,05).

Todos os bioensaios realizados até o momento têm demonstrado que o extrato de *A. vepretorum* atua na mortalidade e também em aspectos biológicos de *T. urticae*. O próximo experimento foi realizado com o intuito de avaliar o efeito desse extrato no comportamento do ácaro. O teste de dupla escolha permitiu avaliar a preferência do ácaro, entre o controle e o extrato, para alimentação e oviposição. Esses testes foram realizados com extrato metanólico e hexânico, e estes demonstraram resultados semelhantes, onde todas as concentrações testadas do extrato foram significativamente diferentes do controle.

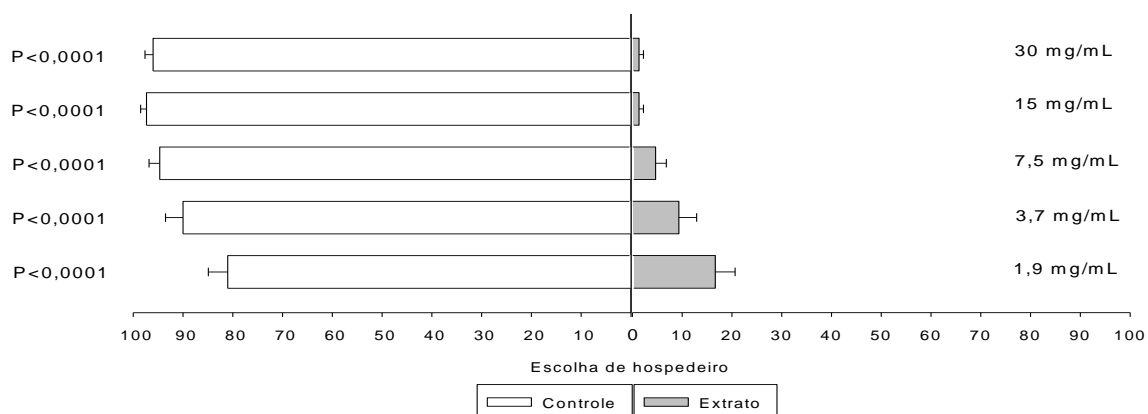
Quando as fêmeas tiveram chance de escolha entre o controle e extrato metanólico, nas concentrações de 1,9, 3,7, 7,6, 15 e 30 mg/mL, verificou-se, respectivamente, que após 24 horas 84, 74, 92, 96 e 99% dessas fêmeas encontravam-se no controle (Figura 3). Nos testes com o extrato hexânico nas concentrações de 1,9, 3,7, 7,6, 15 e 30 mg/mL, foi observado que, respectivamente, 82, 90, 95, 98 e 98% das fêmeas tiveram preferência pelo controle (Figura 4). Dessa forma, foi possível afirmar que a medida que se aumenta a concentração do extrato a uma maior preferência da fêmea pelo controle, sugerindo que nesses extratos orgânicos podem conter propriedades repelentes.

Figura 3. Frequência média (%) de fêmeas de *Tetranychus urticae* na escolha pelo hospedeiro tratado e não tratado com extrato metanólico de *Annona vepretorum* em diferentes concentrações. Avaliação após 24 horas da liberação das fêmeas. Diferenças significativas analisadas pelo teste qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade.



FONTE: FERNANDES, M.H.A.

Figura 4. Frequência média (%) de fêmeas de *Tetranychus urticae* na escolha pelo hospedeiro tratado e não tratado com extrato hexânico de *Annona vepretorum* em diferentes concentrações. Avaliação após 24 horas da liberação das fêmeas. Diferenças significativas analisadas pelo teste qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade.



FONTE: FERNANDES, M.H.A.

Os resultados mostraram que a escolha das fêmeas para oviposição foi um reflexo da escolha para alimentação, pois os percentuais observados foram muito semelhantes para ambas as escolhas nos tratamentos. Sendo que, o menor percentual de oviposição no controle foi de 83%, alcançando até 100%.

Dessa forma, fica evidente que a quantidade de ovos na área controle e área tratada está relacionada à preferência alimentar do ácaro no decorrer do tempo de exposição ao extrato (SABELIS, 1985).

Esses resultados mostram que o extrato de *A. vepretorum* além de possuir poder acaricida, também exibe atividades que afetam aspectos biológicos e comportamentais de *T. urticae*. Mesmo que não sejam necessariamente letais para os ácaros, alguns compostos químicos desse extrato podem contribuir indiretamente para o controle dessa praga, pois são capazes de interferir no ciclo biológico e, conseqüentemente, reduzir a densidade populacional.

A identificação de espécies vegetais com potencial acaricida tem sido cada vez mais necessária para contribuir no desenvolvimento de produtos botânicos e introdução destes no mercado como uma alternativa aos produtos químicos convencionais. Pois, a maioria dos biopesticidas é caracterizada por baixa toxicidade em mamíferos, efeitos reduzidos sobre organismos benéficos e mínima persistência no ambiente. Além disso, por constituírem-se por misturas complexas o desenvolvimento da resistência pode ocorrer muito lentamente.

Após esse estudo, o extrato de *A. vepretorum* surge como uma alternativa possível no controle de *T. urticae*. Porém, muitos outros trabalhos devem ser realizados, uma vez que, este é o primeiro estudo que avalia a atividade pesticida dessa espécie vegetal. Sendo essencial a realização de outras avaliações em condições de campo ou semi-campo, para verificar a estabilidade e eficácia desses metabólicos que apresentaram bioatividade em laboratório.

REFERÊNCIAS

AFIFY, A.E.-M.M.R. et al. Acaricidal activity of different extracts from *Syzygium cumini* L. Skeels (Pomposia) against *Tetranychus urticae* Koch. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, Hainan, v.1, n.5, p.359-364, 2011.

AGUIAR-MENEZES, E. de L.A. **Inseticidas Botânicos: Seus Princípios Ativos, Modo de Ação e Uso Agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005.

ALALI, F.Q.; LIU, X.X.; MCLAUGHLIN, J.L. Annona ceousacetogenins: Recent progress. **Journal of Natural Products**, Columbus, v.62, n.2, p.504-540, 1999.

ÁLVAREZ, O. et al. Toxic effects annonaceous acetogenins on *Oncopeltus fasciatus*. **Journal of Pest Science**, Tokyo, v.81, n.2, p.85- 89, 2008.

APRD. 2016. Arthropod Pesticide Resistance Database. Disponível em: <<http://www.pesticideresistance.org>>. Acessado em: 22 de março de 2016.

BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, London, v.22, n.2, p.269-303, 2005.

BERNAYS, E.A.; CHAPMAN, R.F. 1994. Chemicals in Plants, p.14-60. In: BERNAYS, E.A.; CHAPMAN, R.F. (eds.), Host-Plant Selection by Phytophagous Insects. Chapman & Hall, New York, 312p.

BOBADILLA, A.M. et al. Efecto bioinsecticida del extracto etanólico de las semillas de *Annona cherimolia* Miller (chirimoya) y *A. muricata* Linnaeus (guanábana) sobre larvas del IV estadio de *Anopheles* sp. **Revista Peruana de Biología**, Lima, v.9, n.2, p.64-73, 2002.

BOBADILLA, M. et al. Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus «guanábana» sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). **Revista Peruana de Biología**, Lima, v.12, n.1, p.145-152, 2005.

CARNEIRO, A.P.; PEREIRA, M.J.B.; GALBIATI, C. Efeito biocida do extrato de *Annona coriacea* Mart 1841 sobre ovos e ninfas recém-eclodidas do vetor da doença de Chagas *Rhodnius neglectus* Lent 1954 (Hemiptera, Reduviidae). **Neotropical Biology And Conservation**, São Leopoldo, v.6, n.2, p.131-136, 2011.

CASTILLO-SÁNCHEZ, L.H.C. et al. Secondary metabolites of the Annonaceae, Solanaceae and Meliaceae families used as biological control of insects. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, Mérida, v.12, n.3, p.445-462, 2010.

COSTA, E.L.N.; SILVA, R.F.P.; FIUZA, L.M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, São Leopoldo, v.26, n.2, p.173-85, 2004.

DINIZ, T.C **Toxicologia pré-clínica e avaliação do extrato etanólico bruto de *annona vepretorum* mart. (annonaceae) sobre o sistema nervoso central de roedores**. 2013. 115f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2013.

FONTANA, J.D. et al. Selective Polarity- and adsorption- guided extraction/purification of *Annona* sp. polar acetogenins and biological assay against agricultural pests. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New York, v.70, n.19, p.67-76, 1998.

GRBIC, M. et al. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. **Nature**, v.472, p.487-492, 2011.

- ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.51, p.45-66, 2006.
- ISMAN, M.B.; SEFFRIN, R. Natural Insecticides from the Annonaceae: A Unique Example for Developing Biopesticides. **Advances in Plant Biopesticides**, New Delhi, p.21-33, 2014.
- KAMARAJ, C. et al. Larvicidal activity of medicinal plant extracts against *Anopheles subpictus* & *Culex tritaeniorhynchus*. **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, v.134, p.101-106, 2011.
- KATHRINA, G.A.; ANTONIO, L.P.J. Control biológico de insectos mediante extractos botánicos, p. 137-160. In: CARBALLO, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Controle biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004.
- KHALEQUZZAMAN, M.; SULTANA, S. Insecticidal activity of *Annona squamosa* L. seed extracts against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of BioScience**, Bangalore, v.14, n.1, p.107-112, 2006.
- KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.36, p.225-242, 2014.
- KUMRAL, N.A.; ÇOBANOĞLU, S.; YALCIN, C. Acaricidal, repellent and oviposition deterrent activities of *Datura stramonium* L. against adult *Tetranychus urticae* (Koch). **Journal of Pest Science**, Tokyo, v.83, p.173–180, 2010.
- MAAS, P.; LOBÃO, A.; RAINER, H. Annonaceae. In: Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB110219>>. Acesso em: 03 abr. 2016.
- MACIEL, A.G.S. **Controle alternativo de *Tetranychus urticae* com extratos de sementes de graviola, *Annona muricata* L. e com ácaro predador *Amblyseius aerialis* (Muma, 1955) (Acari: Phytoseiidae)**. 2014, 73f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2014.
- MACIEL, A.G.S. et al. Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae)**. *African Journal of Agricultural Research*, v.10, n.48, p.4370-4375, 2015.
- MERCADO, V.T.; CHUNG, S.J.; MESINA, R.V. Estudio preliminar del efecto acaricida de seis extractos metanólicos sobre la araña bimaclada, *Tetranychus urticae* Koch. **Idesia**, Arica, v.32, n.2, p.37-45, 2014.

MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. Manual de acarologia: Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos, 2008. 308p.

NICASTRO, R.L.; SATO, M.E.; SILVA, M.Z. da. Milbemectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin. **Experimental and Applied Acarology**, Northwood, v.50, p.231-241, 2010.

Ocampo D.; Ocampo, R. Bioactividad de la familia Annonaceae. **Revista Universidad de Caldas**, Caldas, v.26, p.135–155, 2006.

OLIVEIRA, A.C.; PEREIRA, M.J.B. Efeito antialimentar do extrato metanólico de *Annona crassiflora* Mart. sobre o percevejo marrom *Euschistus heros* (Fabr. 1798) (Heteroptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 4, n.2, p.2633-2636, 2009.

PARVIN, S. et al. Pesticidal activity of Pure Compound Annotemoyin-1 Isolated from chloroform extract of the plant *Annona squamosa* Linn. against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Biological Sciences**, v.6, n.12, p.1088-1091, 2003.

PAVELA, R. Acaricidal properties of extracts and major furanochromenes from the seeds of *Ammi visnaga* Linn. against *Tetranychus urticae* Koch. **Industrial Crops and Products**, v.67, p.108–113, 2015.

PÉREZ-PACHECO, R. et al. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Acta Zoológica Mexicana**, Ciudad de México, v.20, n.1, p.141-152, 2004.

PONTES, W.J.T. et al. Effects of the ethanol extracts of leaves and branches from four species of the genus *Croton* on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **BioAssay**, Piracicaba, v.6, n.3, p.1-5, 2011.

POTENZA, M.R. et al. Avaliação de produtos naturais para o controle do ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) em casa de vegetação. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.4, p.455-459, 2006.

POTENZA, M.R. et al. Avaliação acaricida de produtos naturais para o controle de ácaro vermelho do cafeeiro *Oligonychus ilicis* (mcgregor) (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.4, p.499-503, 2005.

RIBEIRO, L.P. et al. *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae): A promising source of bioactive compounds against *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, Exeter, v.55, p.6-14, 2013.

RODRIGUES, A.M.S. et al. Larvicidal activity of some Cerrado plants extracts against *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Mount Laurel, v. 22, n.2, 314- 317, 2006.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v.1, n.1, p.43-50, 2001.

ROH, H.S. et al. Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal Pest Science**, Tokyo, v.84, p.495-501, 2011.

SABELIS, M.W. 1985. **Reproductive strategies in spider mites: their biology, natural enemies and control**. In: HELLE, W.; SABELIS, M.W. (Eds.), World crop pests, 1B. Elsevier, Amsterdam 265-278p.

SAS Institute. 2002. **SAS user's guide: statistics**, ver. 9.0, 7th edn. SAS Institute, Cary.

SHAALAN, E.A.S. et al. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, United Kingdom, v.31, p.1149-1166, 2005.

SILVA, A.P.T.; PEREIRA, M.J.B.; BENTO, L.F. Extrato metanólico da semente de araticum (*Annona coriacea*) (MART.) sobre a mortalidade da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v.2, n.2, p.1150-1153, 2007.

SILVA, F.R. et al. Toxicidade de acaricidas para ovos e fêmeas adultas de *Euseius alatus* Deleon (Acari: Phytoseiidae). **Revista Caatinga**, Mossoró, v.19, p.294-303, 2006.

VAN LEEUWEN, T. et al. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Sophia Antipolis, v.40, p.563-572, 2010.

WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. 2008. **Analysis of global pesticide resistance in arthropods**, p. 5-31. In: WHALON, M.E; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. (eds.), Global pesticide resistance in arthropods. Cambridge, CAB International, 208p.

5. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ACARICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Annona vepretorum* (ANNONACEAE) SOBRE *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)²

RESUMO – Novas estratégias no controle de *Tetranychus urticae* Koch tem sido investigada nos últimos anos como alternativa aos acaricidas sintéticos convencionais. Este trabalho teve como objetivo determinar os constituintes químicos de óleos essenciais de folhas de *Annona vepretorum* Mart, coletadas em duas épocas distintas, e avaliar a toxicidade sobre *T. urticae*. A análise realizada por CG/EM revelou como constituinte majoritário o espatulenol (29,84%) na época 1 (junho/2015) e biciclogermacreno (28,81%) na época 2 (fevereiro/2016). Recipientes de vidro (1,4 L) foram utilizados como câmaras de fumigação. Para cada combinação de dose (2,5, 5, 10, 20 e 40 µL/L de ar) e tempo de exposição (24, 48 e 72 h) foram realizadas três repetições, com 30 fêmeas cada. Para avaliar a toxicidade por contato do óleo da época 2, as concentrações utilizadas foram 0, 200, 400, 600 e 800 µL/mL e realizadas 10 repetições/tratamento, totalizando 100 ácaros. A avaliação ocorreu após 24, 48 e 72 h após a liberação do ácaro. Constatou-se efeito significativo na interação entre as épocas de coleta e as diferentes concentrações do óleo. A ação fumigante dos óleos foi maior após 72 h, na concentração de 40 µL/L, alcançando em média 98,9 e 97,2% de mortalidade nas épocas 1 e 2, respectivamente. No teste de contato, análise de regressão só foi significativa para as concentrações de 200, 600 e 800 µL/mL. A toxicidade por contato foi maior nas primeiras 24 horas, onde a maior mortalidade (96,4%) foi obtida com 800 µL/mL. O óleo essencial de *A. vepretorum* tem ação contra *T. urticae*, porém, outros estudos devem ser realizados com essa espécie vegetal.

PALAVRAS-CHAVE: Ácaro rajado. Pesticida botânico. Óleos essenciais.

²FERNANDES, M.H.A.; MENEZES, K.O.; OLIVEIRA, A.P.; ALMEIDA, J.R.G.; OLIVEIRA, J.E.M.; GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.R. Composição química e atividade acaricida do óleo essencial de *Annona vepretorum* (Annonaceae) sobre *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). A ser submetido.

**CHEMICAL COMPOSITION AND ACARICIDES ACTIVITY OF THE
ESSENTIAL OIL OF *Annona vepretorum* (ANNONACEAE) ON *Tetranychus
urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE)**

ABSTRACT – New strategies in control of *Tetranychus urticae* Koch has been investigated in recent years as an alternative to conventional synthetic acaricides. This study aimed to determine the chemical constituents of essential oils of *Annona vepretorum* Mart leaves, collected in two different periods, and to evaluate the toxicity of *T. urticae*. The analysis made by GC/MS has revealed the spathulenol as major constituent (29.84%) at the time 1 (June/2015) and bicyclogermacrene (28.81%) at the time 2 (February/2016). Glass containers (1.4 L) were used as fumigation chambers. For each combination dose (2.5, 5, 10, 20 e 40 $\mu\text{L/L}$ of air) and exposure time (24, 48 and 72 h) were made three replicates with 30 females each. To evaluate the toxicity of the oil by contact at time 2, the concentrations used were 0, 200, 400, 600 and 800 $\mu\text{L/mL}$ and performed 10 repetitions/treatment, totaling 100 mites. The evaluation were performed on 24, 48 and 72 h after release of the mite. It was found a significant effect in interaction between the time of collection and the different oil concentrations. The fumigant action of the oils was greater after 72h in concentration of 40 $\mu\text{L/L}$, reaching the average 98.9 and 97.2% of mortality at the times 1 and 2, respectively. In the contact test, regression analysis was only significant at the concentrations of 200, 600, and 800 $\mu\text{L/mL}$. The toxicity by contact was greater in the first 24 hours, where the highest mortality rate (96.4%) was obtained with 800 $\mu\text{L/mL}$. The essential oil of *A. vepretorum* has action against *T. urticae*, however, further studies must be performed with this plant species.

KEY WORDS: Spotted spider mite. Botanical pesticide. Essential oils.

INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são um grupo de metabolitos secundários, com misturas complexas de terpenóides, que possuem potentes propriedades bioativas (LABORDA et al., 2013). Esses óleos, na natureza, desempenham um papel importante na proteção das plantas como agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos e inseticidas (BAKKALI et al., 2008). Nas plantas, eles mostram bioatividades ampla e modificada em artrópodes, que variam de toxicidade (ISMAN, 2004; JIANG; AKHTAR; BRADBURY, 2009; AKHTAR et al., 2010) para efeitos subletais, incluindo deterrência de oviposição e alimentação (AKHTAR et al., 2010) ações repelente e atraente (ISMAN, 2006).

Diversos óleos essenciais de plantas mostraram atividade acaricida contra diferentes espécies de ácaros, incluindo o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) (ROH; LEE; PARK, 2013). Esta espécie de ácaro tem ampla distribuição mundial e é uma das principais pragas que ocorre em ambientes abertos e fechados, (GERSON; WEINTRAUB, 2012). Ataca muitas plantas de importância econômica, tais como frutíferas, hortaliças e ornamentais (VAN LEEUWEN et al., 2007; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O controle de *T. urticae*, normalmente, é realizado através de acaricidas sintéticos, porém, a utilização contínua e excessiva desses produtos possibilita a ocorrência de efeitos adversos, como intoxicação, contaminação ambiental e eliminação de inimigos naturais (MOTAZEDIAN; RAVAN; BANDANI, 2012), além do desenvolvimento de populações resistentes aos acaricidas (NICASTRO; SATO; SILVA, 2010). Assim, visando à redução desses efeitos negativos, métodos alternativos para o controle de *T. urticae* vêm sendo testados, dentre os quais destacam-se o uso de óleos essenciais extraídos de plantas (MOTAZEDIAN; RAVAN; BANDANI, 2012).

Em contraste aos acaricidas sintéticos, geralmente constituídos por um único ingrediente ativo, óleos essenciais apresentam uma mistura complexa de constituintes (20-60 componentes), bastante diferentes em concentrações, o que os tornam mais adequados para evitar a resistência, uma vez que seus componentes podem interagir sinergicamente (BAKKALI et al., 2008; ISMAN; MIRESMAILLI; MACHIAL, 2011).

Os óleos essenciais podem ser sintetizados por todos os órgãos da planta, ou seja, brotos, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutas, raízes,

madeira ou casca, e são armazenadas em células secretoras, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (BAKKALI et al., 2008). A composição química desses óleos é determinada por fatores genéticos, porém, outros fatores podem acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários (MORAIS, 2009).

A extração dos óleos essenciais é, geralmente, realizada por vapor ou hidro-destilação e pode variar em qualidade, quantidade e composição de acordo com o clima, composição do solo, órgão da planta, época de coleta, idade e fase vegetativa (MASOTTI et al., 2003; ANGIONI et al., 2006, MORAIS, 2009). Esses óleos são extraídos a partir de várias plantas aromáticas geralmente encontradas em países quentes e de clima temperado, a exemplo de países mediterrânicos e tropicais (BAKKALI et al., 2008).

Dentre as famílias de plantas encontradas nas regiões tropicais ou subtropicais do mundo, destaca-se a família Annonaceae com cerca de 108 gêneros e, aproximadamente, 2.400 espécies (CHATROU et al., 2012). Muitas das espécies dessa família, principalmente as do gênero *Annona*, já foram investigadas para fins de controle de pragas (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014). No entanto, o potencial da grande maioria das anonáceas ainda não foi estudado, como é o caso da espécie *Annona vepretorum* Mart.

Na literatura, encontram-se poucos trabalhos realizados com *A. vepretorum*. Os estudos realizados, com óleo essencial desta espécie, descrevem a composição química e atividade antioxidante, antinociceptivo, anti-inflamatório, antimaláricas e tripanocida (COSTA et al., 2012; SILVA, 2013; ARAÚJO et al., 2015; MEIRA, et al., 2015), porém, não há relatos do uso dessa espécie investigando seu potencial no controle de insetos e ácaros.

Na busca por alternativas aos acaricidas convencionais, óleos essenciais pertencentes a várias espécies de plantas têm sido amplamente investigados e vários desses óleos e seus constituintes já apresentaram eficácia contra os ácaros fitófagos (ISMAN, 2000; MIRESMAILLI; BRADBURY; ISMAN, 2006). Assim, este trabalho teve como objetivo identificar a composição química de óleos essenciais de folhas de *A. vepretorum*, coletadas em duas épocas distintas, e avaliar a toxicidade desses óleos sobre o ácaro *T. urticae*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os óleos essenciais foram obtidos no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) e as análises químicas foram realizadas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP em Ribeirão Preto. Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Semiárido.

Material vegetal. Folhas de *A. vepretorum* foram coletadas em área de caatinga no campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco (latitude 09°19'37,50" longitude 040°33'01,40" e altitude 385 m) em duas épocas distintas, junho de 2015 (época 1) e fevereiro de 2016 (época 2). A exsicata da espécie está depositada no Herbário Vale do São Francisco (HVASF) na Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF) sob o número #18350.

Extração do óleo essencial. As folhas frescas foram trituradas com água destilada em um liquidificador industrial e submetidas à hidrodestilação durante 2 horas num aparelho tipo Clevenger. Ao final do processo, obteve-se 1,35 g do óleo essencial das folhas coletadas (1,672 kg) da época 1 e 1,85 g do óleo das folhas coletadas (1,730 kg) na época 2. O óleo essencial foi separado da água por diferença de densidade e armazenado em frasco de vidro âmbar em freezer, a temperatura inferior a 4 °C.

Análise química do óleo essencial. As substâncias presentes no óleo essencial de *A. vepretorum* foram investigadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu QP-2010 em interface com um espectrômetro de massa (CG/EM). Foram utilizadas as seguintes condições: coluna DB-5MS Agilent Technologies (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm); hélio (99,999%) como gás transportador com um fluxo constante de 1,1 ml/min; volume de injeção 1,0 µl; a taxa de partição do volume injetado foi de 1:10; temperatura do injetor de 250 °C; detector de captura iônica operando com ionização por impacto de elétrons a 70 eV; fontes de íons a temperatura de 280 °C e linha de transferência de temperatura a 260 °C. A programação de temperatura do forno do CG foi de 60 °C, com um aumento de 3 °C/min até 240 °C.

Uma mistura de hidrocarbonetos lineares (C₉H₂₀-C₂₁H₄₀) foi injetado sob as mesmas condições experimentais que as amostras, e a identificação dos componentes foi efetuada por comparação dos espectros obtidos com os

da base de dados dos equipamentos (Wiley 7 lib e NIST 08 lib) e através da utilização do Índice de Kovats, cada componente foi calculado como previamente descrito (ADAMS, 1997; VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963). Os dados foram obtidos e processados com um PC com o software Shimadzu GC/MS Solution.

Criação de *T. urticae*. Os ácaros utilizados nos ensaios foram provenientes de uma criação mantida no Laboratório de Entomologia da Embarapa Semiárido. Os ácaros foram criados em plantas de feijão-de-porco, *Canavalia ensiformes* L. (Leguminosae), sob temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Essas mesmas condições foram adotadas na condução de todos os experimentos.

Teste de fumigação. Recipientes de vidro com capacidade de 1,4 L foram usados como câmaras de fumigação. Em placas de Petri (9 cm), contendo uma esponja de polietileno umedecida com água e um disco de papel filtro, foram colocados três discos de folha de feijão-de-porco (2,5 cm). Em cada disco de folha foram colocadas 10 fêmeas adultas de *T. urticae*. Cada placa de Petri, contendo 30 ácaros, foi colocada no interior do recipiente de vidro. O óleo essencial foi aplicado, com auxílio de uma pipeta automática, em tiras de papéis de filtro (5 x 2 cm) presas à superfície inferior da tampa dos recipientes. Após a aplicação, os recipientes foram fechados e abertos somente no momento da avaliação. As doses aplicadas foram de 3,5, 7, 14, 28 e 56 μL do óleo essencial, o que corresponde a uma concentração de 2,5, 5, 10, 20 e 40 $\mu\text{L/L}$ de ar, respectivamente. Nada foi aplicado na testemunha. O período de exposição ao óleo foi de 24, 48 e 72 horas. Para cada dose e tempo de exposição, 3 repetições foram realizadas, sendo cada repetição um recipiente de vidro contendo uma placa de Petri com 30 ácaros. As câmaras de fumigação foram mantidas em câmara climatizada (B.O.D.). Para ambos os óleos essenciais (época 1 e época 2) os testes foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) considerando esquema fatorial 6x2 (6 concentrações de óleo e 2 épocas de coleta).

As avaliações foram realizadas ao final do período de cada tempo de exposição, considerando mortos os ácaros incapazes de caminhar uma distância superior ao comprimento de seu corpo após um leve toque com pincel de cerdas finas.

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade dos resíduos de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade de Bartlett a 5% de significância. Em seguida, foram realizadas análises de variância e de regressão ($p \leq 0,05$). Estas análises foram realizadas com auxílio do software R versão 3.2.5 (R CORE TEAM, 2016).

Toxicidade por contato. Os testes para avaliar o efeito por contato residual foram realizados através do método de “pincelagem” em disco de folha descrita por Miresmailli; Bradbury; Isman, (2006). Devido ao baixo rendimento obtido para o óleo essencial da época 1, só foi possível a realização desse bioensaio com o óleo da época 2. As concentrações utilizadas foram 200, 400, 600 e 800 $\mu\text{L}/\text{mL}$. As soluções foram preparadas pela diluição do óleo essencial em água destilada e Tween 20 (0,1%) utilizado como dispersante. No tratamento controle foi utilizada apenas água destilada contendo o dispersante a 0,1%. Discos de folha de feijão-de-porco (3,0 cm) foram acondicionados em placas de Petri (9 cm) contendo uma esponja de polietileno umedecida com água e um disco de papel de filtro. A face inferior desses discos foi tratada com o óleo essencial através da aplicação, com uma pipeta automática, de uma alíquota de 20 μL por disco da solução de cada tratamento. A solução aplicada em cada disco de folha foi espalhada com o auxílio de um bastão de vidro. Após secar em temperatura ambiente por aproximadamente duas horas, as bordas dos discos foram cobertas com pedaços de papel toalha para evitar a fuga dos ácaros. Em seguida, 10 fêmeas adultas de *T. urticae* foram transferidas para cada disco de folha e as placas de Petri acondicionadas em câmara climatizada (B.O.D.). Foram realizadas 10 repetições por concentração, totalizando 100 ácaros por tratamento. Os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) considerando o arranjo em parcela subdividida 5x3 (5 concentrações e 3 tempos).

As avaliações foram realizadas após 24, 48 e 72 horas da liberação dos ácaros, registrando-se o número de ácaros mortos. A mortalidade foi considerada quando, após um leve toque com a extremidade de um pincel de cerdas finas ($n^{\circ}000$), os ácaros foram incapazes de se deslocar por uma distância superior ao comprimento do seu corpo.

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade dos resíduos de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade de Bartlett a 5% de significância. Em seguida, os dados foram transformados para $\log(x+1)$ e

prosseguiu-se com as análises de variância e regressão ($p \leq 0,05$). As análises foram realizadas com auxílio do software R versão 3.2.5 (R CORE TEAM, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização química dos óleos essenciais de folhas de *A. vepretorum*, através da análise por CG-EM, permitiu detectar 81,45% dos constituintes da amostra de óleo da coleta de junho/2015 (época 1) e 91,14% dos constituintes da coleta de fevereiro/2016 (época 2).

A análise da composição do óleo essencial de *A. vepretorum* da época 1, revelou 34 picos, dos quais foi possível identificar 19 destes. Os componentes majoritários encontrados foram: espatulenol (29,84%), biciclogermacreno (10,82%), (*E*)- β -ocimeno (7,84%), germacreno D (6,99%), *p*-cimeno (3,89%), cadin-4-en-10-ol (3,19%) (Tabela 1).

Para o óleo essencial de *A. vepretorum* coletado na época 2, foram observados 42 picos, dos quais 23 foram identificados. Os componentes reconhecidos como majoritários foram: biciclogermacreno (28,81%), (*E*)- β -ocimeno (15,19%), germacreno D (13,41%), α -phellandreno (11,41%), espatulenol (7,05%), *p*-cimeno (3,12%), α -pineno (2,45%), (*E*)-cariofileno (1,53%) (Tabela 2).

Outros constituintes foram identificados, mas em menor concentração, nos óleos avaliados. Na maioria das vezes os componentes principais que estão em maior quantidade nos óleos essenciais são testados comprovando que o efeito causado pelo óleo é devido a este composto majoritário, porém em alguns óleos essenciais alguns componentes agem sinergicamente (LEYVA et al., 2009).

Tabela 1. Composição química do óleo essencial de folhas de *Annona vepretorum* coletas em junho de 2015 (época 1).

Pico	TR (min) ¹	IR exp. ²	IR lit. ³	Composto	% CG-EM ⁴
1	5,52	930	939	α -Pineno	2,24
2	6,71	974	979	β -Pineno	0,22
3	6,99	985	990	Mirceno	0,65
4	7,53	1004	1002	α -Phellandreno	1,96
5	8,11	1020	1024	<i>p</i> -Cimeno	3,89
6	8,32	1026	1029	Limoneno	2,89
7	8,50	1031	1037	(<i>Z</i>)- β -Ocimeno	0,60
8	8,89	1042	1050	(<i>E</i>)- β -Ocimeno	7,84
9	10,83	1096	1096	Linalool	0,36
10	15,26	1204	---	2,6-Dimetil-3,5,7-octatrieno-2-ol	0,71
11	16,77	1239	---	Limoneno dioxide	2,02
12	17,86	1264	---	NI	0,61
13	19,06	1293	---	NI	0,45
14	19,95	1314	---	NI	1,60
15	20,22	1320	---	NI	1,31
16	23,03	1386	---	NI	0,25
17	23,11	1388	---	NI	1,65
18	24,30	1417	1419	(<i>E</i>)-Cariofileno	1,16
19	25,97	1458	---	NI	0,56
20	26,79	1479	1481	Germacreno D	6,99
21	27,41	1494	1500	Biciclogermacreno	10,82
22	30,57	1575	1578	Espatuleno	29,84
23	30,79	1580	---	NI	0,73
24	30,89	1583	1590	Globulol	2,27
25	31,19	1591	1592	Viridiflorol	2,56
26	31,59	1601	---	NI	1,19
27	32,48	1625	---	NI	0,60
28	32,73	1632	---	NI	3,39
29	33,04	1640	---	NI	2,19
30	33,15	1643	---	NI	0,84
31	33,48	1652	---	Cadin-4-en-10-ol	3,19
32	34,18	1671	---	NI	1,54
33	35,76	1714	---	NI	1,64
34	44,16	1962	---	Ácido hexadecanoico	1,24
Total					81,45

FONTE: FERNANDES, M.H.A.

¹TR: tempo de retenção, ²IR exp.: índice de retenção encontrado na amostra; ³IR lit.: índice de retenção encontrado na literatura, ⁴GC-MS: cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. NI= não identificado.

Tabela 2. Composição química do óleo essencial de folhas de *Annona vepretorum* coletas em fevereiro de 2016 (época 2).

Pico	TR (min) ¹	IR exp. ²	IR lit. ³	Composto	% CG-EM ⁴
1	5,29	921	930	α -Tujeno	0,08
2	5,50	929	939	α -Pineno	2,45
3	6,69	973	979	β -Pineno	0,14
4	6,97	984	990	Mirceno	0,74
5	7,52	1003	1002	α -Phellandreno	11,41
6	8,09	1019	1024	<i>p</i> -Cimeno	3,12
7	8,31	1025	1029	Limoneno	0,49
8	8,48	1030	1037	(<i>Z</i>)- β -Ocimeno	1,05
9	8,88	1041	1050	(<i>E</i>)- β -Ocimeno	15,19
10	10,26	1080	---	NI	0,08
11	10,38	1083	---	δ -2-Careno	0,06
12	10,81	1095	1096	Linalool	0,23
13	15,23	1203	---	NI	0,31
14	16,74	1238	---	NI	0,57
15	19,90	1312	---	NI	0,34
16	20,19	1319	---	NI	0,41
17	20,72	1332	---	NI	0,27
18	20,81	1334	---	δ -Elemeno	0,22
19	22,51	1374	1376	α -Copaeno	0,36
20	23,08	1388	1390	β -Elemeno	1,27
21	24,28	1417	1419	(<i>E</i>)-Cariofileno	1,53
22	24,90	1432	---	NI	0,27
23	25,71	1452	---	NI	0,45
24	25,95	1458	1460	<i>allo</i> -Aromadendreno	0,65
25	26,78	1478	1481	Germacreno D	13,41
26	27,41	1494	1500	Biciclogermacreno	28,81
27	27,79	1503	---	NI	0,44
28	28,34	1517	1523	δ -Cadineno	0,53
29	30,50	1573	1578	Espatulenol	7,05
30	30,85	1582	1590	Globulol	0,68
31	31,16	1590	1592	Viridiflorol	0,58
32	31,53	1599	---	NI	0,81
33	32,44	1624	---	NI	0,26
34	32,70	1631	---	NI	1,19
35	32,97	1638	---	NI	1,51
36	33,47	1652	---	Cadin-4-en-10-ol	1,09
37	34,16	1670	---	NI	1,05
38	34,84	1689	---	NI	0,12
39	35,33	1702	---	NI	0,28
40	35,72	1713	---	NI	0,25
41	35,85	1717	---	NI	0,09
42	37,28	1757	---	NI	0,15
Total					91,14

FONTE: FERNANDES, M.H.A.

¹TR: tempo de retenção, ²IR exp.: índice de retenção encontrado na amostra; ³IR lit.: índice de retenção encontrado na literatura, ⁴GC-MS: cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. NI= não identificado.

Ao comparar os constituintes químicos presentes nas duas amostras de óleo essencial de *A. vepretorum*, é possível afirmar que há diferenças em sua composição. As análises evidenciaram o espatulenol (29,84%) e o biciclogermacreno (10,82%) como os principais componentes do óleo referente

à coleta da época 1, já para a época 2 os majoritários foram biciclogermacreno (28,81%) e (*E*)- β -ocimeno (15,19%). Isto indica que a mesma espécie vegetal pode apresentar diferenças em sua composição química dependendo da época de coleta, sendo, portanto, o efeito sazonal um fator a ser considerado.

Outros fatores podem exercer influência direta nos metabólitos secundários produzidos pelas plantas, tais como a temperatura, umidade relativa, luminosidade, nutrição, estágio de desenvolvimento e estresse hídrico (MORAIS, 2009). Essas características podem justificar as diferenças dos compostos químicos de *A. vepretorum* encontrados no presente trabalho com aqueles encontrados por Araújo et al., (2015), na mesma região, que observou como componentes principais o espatulenol (43,7%) e limoneno (20,5%). Os compostos *E*-ocimeno (25,56%) e biciclogermacreno (15,63%) também já foram citados como majoritários do óleo essencial de folhas de *A. vepretorum* coletadas em Petrolina (SILVA et al., 2013).

Em estudos realizados para avaliar a composição química de folhas de *A. vepretorum* no Estado de Sergipe, Costa et al., (2012) e Meira et al., (2015) identificaram o biciclogermacreno (43,7%) e espatulenol (11,4%); e biciclogermacreno (39,0%) e espatulenol (14,0%), respectivamente, como os principais compostos do óleo dessa espécie. Esses resultados corroboram com os resultados encontrados no presente trabalho.

O composto biciclogermacreno é um dos mais abundantes em óleos essenciais de Annonaceae, com destaque para o gênero *Annona*. O biciclogermacreno constitui 18,2% do óleo essencial de *Annona cherimola* (RIOS et al., 2003), 35,12% de *Annona foetida* (COSTA et al., 2009), 39,8% de *Annona coriácea* (SIQUEIRA et al., 2011), 20,3% de *Annona salzmannii* e 45,4% de *Annona pickelii* (COSTA et al., 2011).

A detecção da concentração proeminente de biciclogermacreno em muitas espécies de *Annona* sugere que estas plantas são uma fonte natural deste composto. Outro destaque é o espatulenol, que tem sido relatado como um composto presente com teores elevados no óleo essencial de várias espécies da família Annonaceae (TRIGO et al., 2007; PEREZ-HERNANDEZ et al., 2008). A presença de biciclogermacreno e espatulenol como componentes principais em óleos essenciais de muitas espécies de anonáceas, sugere que estes compostos podem ser considerados marcadores quimiotaxonômicos do gênero *Annona* (DUTRA et al., 2012; COSTA et al., 2012).

Apesar de alguns compostos químicos serem bastante frequentes em óleos de anonáceas, em geral há uma grande variação dos constituintes, quanto ao tipo e a concentração. Na literatura, é comum perceber essa variação em estudos com espécies do gênero *Annona*, visto que, o composto majoritário de *A. squamosa* é o (E)-cariofileno (27,4%) (MEIRA et al., 2015), de *A. senegalensis* o citronelal (30,0%) (AMEEN et al., 2011) de *A. muricata* o (E)-cariofileno (38,9%) (OWOLABI et al., 2013) de *A. reticulata* o copaeno (35,4%) (CHAVAN; WAKTE; SHINDE, 2012) de *A. glabra* o β -cariofileno (21,5%), de *A. squamosa* o β -cariofileno (24,5%) e de *A. muricata* o β -pineno (20,6%) (THANG et al., 2013). Isso porque a composição desses óleos pode variar com o clima, área geográfica, estações, condições do solo, período de colheita e técnica de isolamento (CARVALHO-FILHO et al., 2006).

Após a identificação dos compostos dos óleos essenciais de *A. vepretorum*, avaliou-se a toxicidade destes óleos sobre o ácaro *T. urticae*. A figura 1 demonstra, por diferentes equações de regressão, os resultados da atividade fumigante do óleo essencial de folhas de *A. vepretorum*, coletadas em duas épocas distintas do ano, sobre a mortalidade de *T. urticae*. Constatou-se efeito significativo na interação entre as épocas de coleta e as diferentes concentrações do óleo.

Observou-se, em todos os tempos de exposição (24, 48 e 72h) do ácaro aos óleos, que a mortalidade de *T. urticae* foi semelhante nas duas épocas de coleta na maior concentração testada (40 μ L/L de ar). Porém, é perceptível que o óleo da época 1, nas menores concentrações, provoca um maior percentual de mortalidade, inferindo que os compostos presentes nesse óleo podem agir sinergicamente e com maior rapidez sobre o ácaro.

De acordo com a análise das curvas de regressão, o aumento significativo da mortalidade foi constatado com o aumento das concentrações dos óleos essenciais (época 1 e 2) em todos os tempos de exposição (24, 48 e 72h), obedecendo uma equação quadrática com valores ascendentes. Nas 24h de exposição ao óleo, a mortalidade diferiu significativamente entre as épocas nas concentrações de 2,5, 10 e 40 μ L/L de ar (Figura 1A). As maiores diferenças de mortalidade entre os óleos das duas épocas ocorreram após 48h de exposição, onde a mortalidade atingiu 68,8 e 11,9% na época 1 e 2, respectivamente, com a concentração de 10 μ L/L de ar. Esse efeito foi ainda maior na concentração de 20 μ L/L, onde a época 1 mostrou uma mortalidade

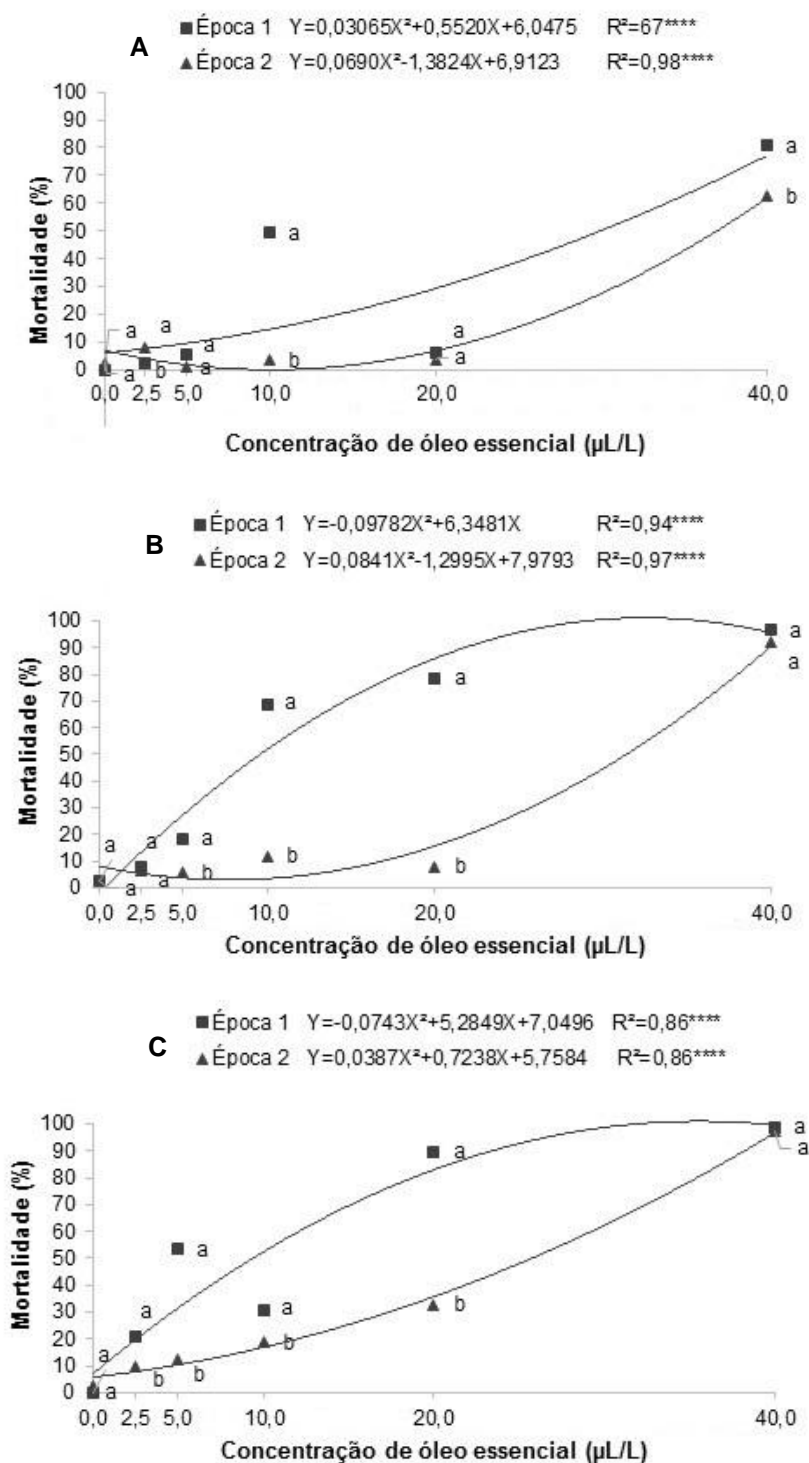
bem superior, em média 70% a mais, em comparação com a época 2 (Figura 1B). Em geral, a toxicidade do óleo foi maior após 72h na concentração de 40 µL/L, alcançando em média 98,9 e 97,2% de mortalidade nas épocas 1 e 2, respectivamente (Figura 1C).

Trabalhos que avaliaram também o efeito fumigante de óleos essenciais contra *T. urticae*, mostraram que a CL₅₀ para a espécie *Protium bahianum* (Burseraceae) foi de 3,5 µL/L de ar (PONTES et al., 2010), *Citrus aurantium* (Rutaceae) de 1,63 µL/L (CHOI et al., 2004) e *Lippia sidoides* (Verbenaceae) de 0,01 µL/L de ar (CAVALCANTI et al., 2010). Analisando esses números, é possível julgar que óleo de *A. vepretorum* possui toxicidade moderada, uma vez que, para alcançar altos níveis de mortalidade do ácaro foi necessário utilizar concentrações elevadas do óleo.

Não há registro na literatura sobre o potencial de óleos essenciais de espécies de *Annona* sobre *T. urticae*. Além disso, poucos trabalhos existem com espécies de anonáceas. Choi et al., (2004) avaliaram a atividade fumigante e Roh et al., (2011) a atividade de contato do óleo essencial de *Cananga odorata* (Annonaceae) contra *T. urticae* e observaram que não houve toxicidade. Entretanto, existem muitos estudos que relatam a ação de óleos essenciais de outras espécies vegetais sobre essa mesma praga.

Dentre as famílias de plantas mais estudadas, quanto a toxicidade de óleos essenciais contra *T. urticae*, destacam-se as famílias Lamiaceae, Myrtaceae, Rutaceae e Solanaceae. Muitas espécies dessas famílias estudadas são consideradas desde muito tóxica a não tóxica. A alta toxicidade por teste de fumigação contra *T. urticae* foi observada nas espécies vegetais *Eugenia caryophyllata* (Myrtaceae), *Eucalyptus citriodora* (Myrtaceae), *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Pimenta racemosa* (Myrtaceae), *Citrus bergamia* (Rutaceae), *Salvia officinalis* (Lamiaceae), *Mentha piperita* (Lamiaceae), *Mentha spicata* (Lamiaceae), *Mentha pulegium* (Lamiaceae), *Lavandula officinalis* (Lamiaceae), *Pelargonium graveolens* (Geraniaceae) (CHOI et al. (2004), *Nepeta racimosa* (Lamiaceae), *Origanum vulgare* (Lamiaceae), *Melissa officinalis* (Lamiaceae) (ÇALMAŞUR; ASLAN; ŞAHIN, 2006), *Allium sativum* (Alliaceae) (HINCAPIÉ LI; LÓPEZ; TORRES, 2008), *Lippia sidoides* (Verbenaceae) (CAVALCANTI et al., 2010) e *Protium bahianum* (Burseraceae) (PONTES et al., 2010).

Figura 1. Efeito de concentrações do óleo essencial de folhas de *Annona vepretorum* e duas épocas de coleta do material vegetal sobre a mortalidade de *Tetranychus urticae*, após 24h (A), 48h (B) e 72h (C) de exposição. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. *****: modelo de regressão significativo ($p \leq 0,0001$).



FONTE: FERNANDES, M.H.A.

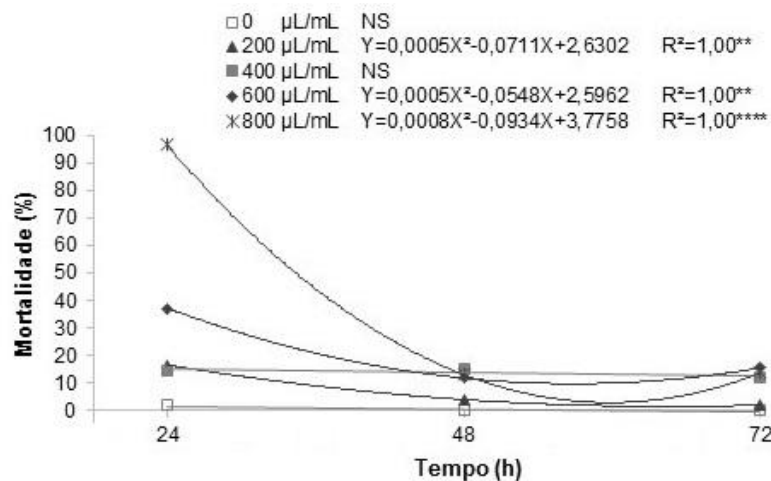
Um trabalho realizado por Choi et al., (2004) mostra que assim como existem muitas espécies altamente tóxicas para *T. urticae*, em experimentos de fumigação, outras apresentam baixa ou nenhuma toxicidade, como é o caso das espécies *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae), *Aniba rosaeodora* (Lauraceae), *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae), *Myristica fragrans* (Myristicaceae), *Citrus reticulata* (Rutaceae), *Santalum album* (Santalaceae), *Zingiber officinale* (Zingiberaceae).

É importante ressaltar que nos óleos essenciais, os níveis dos compostos que possuem ação acaricida podem variar em função da espécie vegetal, das condições de cultivo e da forma de extração desses compostos, o que afeta diretamente na atividade dos óleos essenciais. Por essa razão, tornam-se necessárias pesquisas criteriosas quanto à composição química das substâncias oriundas das plantas e os seus efeitos toxicológicos aos organismos.

Além da ação por fumigação, neste trabalho também foi avaliada a toxicidade por contato do óleo essencial de *A. vepretorum*. De acordo com a análise de variância, houve interação entre as concentrações do óleo e os tempos de avaliação (Figura 2). Foi possível observar que a análise de regressão só foi significativa para as concentrações de 200, 600 e 800 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e não foram significativas para as concentrações de 0 (controle) e 400 $\mu\text{L}/\text{mL}$. A análise de regressão mostrou curvas quadráticas com valores descendentes, pois quanto maior a concentração do óleo, maior a mortalidade dos ácaros.

Os resultados mostraram que na primeira avaliação, com 24 horas, houve o maior índice de mortalidade nas concentrações que foram significativas para a análise de regressão, cuja a mortalidade maior (96,4%) foi obtida com 800 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Já para as concentrações de 600 e 200 $\mu\text{L}/\text{mL}$ a mortalidade foi de 37,2 e 16,6%, respectivamente. Nas avaliações posteriores, com 48 e 72 horas, a mortalidade registrada foi menor. Isso infere que o aparecimento de sinais tóxicos é rápido, apesar dos mecanismos de ação tóxica dos óleos essenciais ainda não serem bem esclarecidos (KNAAK; FIUZA, 2010).

Figura 2. Efeito de concentrações do óleo essencial de folhas de *Annona vepretorum* e três tempos (horas) de avaliação sobre a mortalidade de *Tetranychus urticae*. NS: modelo de regressão não significativo, **: modelo de regressão significativo ($p \leq 0,01$). ****: modelo de regressão significativo ($p \leq 0,0001$).



FONTE: FERNANDES, M.H.A.

Embora tenha sido possível alcançar um percentual alto na mortalidade de *T. urticae* com o teste de contato, é importante observar que para isto foi necessário utilizar uma concentração muito alta do óleo essencial, o que pode caracterizá-lo como pouco tóxico para essa espécie de ácaro. No entanto, isso pode ter ocorrido devido as condições do experimento, o qual foi conduzindo com placas de Petri abertas, fazendo com que possivelmente houvesse perdas significativas dos compostos mais voláteis dos óleos através da evaporação.

Araújo et al., (2012), avaliando por diferentes métodos a toxicidade do óleo de *Piper aduncum* (Piperaceae) e seus constituintes contra *T. urticae*, concluíram que a mortalidade obtida nos testes de contato com placas abertas foi significativamente menor do que aquela obtida para os experimentos com placas fechadas. Isso indica que o tipo de bioensaio e o método de aplicação do óleo podem influenciar diretamente na susceptibilidade dos ácaros.

Não há relatos na literatura da toxicidade de *A. vepretorum* sobre insetos e ácaros. No entanto, vários pesquisadores trabalhando com óleos essenciais no controle de *T. urticae* apresentaram diversos resultados quanto a eficiência destes. Algumas espécies vegetais consideradas muito tóxicas em experimentos de contato para *T. urticae* foram *Citrus sinensi* (Rutaceae) (CHOI

et al., 2004), *Capparis aegyptia* (Capparaceae) (HUSSEIN et al., 2006), *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) (MIRESMALLI; ISMAN, 2006), *Lycopersicon hirsutum* (Solanaceae) (ANTONIOUS; SNYDER, 2006), *Mentha spicata* (Lamiaceae) (OMAR; EL SAYED; ROMEH, 2009), *Datura stramonium* (Solanaceae) (KUMRAL; COBANOGLU; YALCIN, 2009), *Artemisia judaica* (Lamiaceae) (EL-SHARABASY, 2010), *Chrysanthemum coronarium* (Asteraceae), *Hertia cheirifolia* (Asteraceae) e *Mentha pulegium* (Lamiaceae) (ATTIA et al., 2012).

Os resultados obtidos no presente trabalho, para ambos os métodos de avaliação (fumigação e contato), mostram que a toxicidade do óleo de *A. vepretorum* pode variar de acordo com o seu modo de ação, podendo ser mais tóxico por fumigação, do que por contato ou ingestão. Essas diferenças metodológicas relacionadas à forma de aplicação do óleo podem justificar, em parte, a diferença observada na maior suscetibilidade dos ácaros nos testes de fumigação em comparação aos testes de contato.

Uma vez verificado o efeito inseticida/acaricida, os óleos essenciais, principalmente, pela volatilidade, podem ser usados para o controle de pragas em ambientes fechados, como também na preparação de formulações para o emprego em ambientes abertos (ASLAN et al., 2004; ÇALMAŞUR; ASLAN; ŞAHİN, 2006).

Apesar de décadas de pesquisa em todo o mundo e um grande número de espécies vegetais mostrarem toxicidade sobre artrópodes pragas, poucos produtos naturais de plantas têm sido comercializados com sucesso como pesticidas botânicos (ISMAN; MIRESMALLI, 2011). Dentre as barreiras existentes estão: a disponibilidade de material vegetal numa base sustentável, padronização com base na quantificação de ingredientes ativos e aprovação governamental, normalmente exigindo várias avaliações toxicológicas (ISMAN; MACHIAL, 2006).

Pesticidas derivados de óleos essenciais de plantas têm vários benefícios importantes que os tornam compatíveis com manejo integrado de pragas. Dessa forma, espera-se que sejam desenvolvidas formulações capazes de manter os ingredientes ativos para que esses pesticidas alcancem uma maior aplicação comercial no controle de praga.

Este trabalho é o primeiro relato da avaliação do óleo essencial de *A. vepretorum* no controle pragas e, portanto, contribui para melhorar o conhecimento sobre esta espécie ainda pouco estudada.

A busca constante de novos métodos de controle, que sejam capazes de diminuir os efeitos indesejáveis dos produtos químicos e possam ser utilizados de forma integrada com outros métodos, faz com que o uso do óleo essencial de *A. vepretorum* seja apontado como uma alternativa futura aos acaricidas sintéticos para utilização no manejo integrado de *T. urticae*. Porém, muitos outros trabalhos precisam ser realizados para analisar a viabilidade do uso desse óleo e verificar a eficiência em ambientes abertos, bem como a sua ação como repelente ou atraente.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.8, n.6, p.671-672, 1997.
- AKHTAR, Y. et al. Dialkoxybenzene and dialkoxy-allylbenzene feeding and oviposition deterrents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*: potential insect behavior control agents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.4983-4991, 2010.
- AMEEN, O.M. et al. Chemical composition of leaf essential oil of *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae) growing in North Central Nigeria. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, v.5, n.1, p.375-379, 2011.
- ANGIONI, A. et al. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.4364-4370, 2006.
- ANTONIOUS, G.F.; SNYDER, J.C. Natural products: repellency and toxicity of wild tomato leaf extracts to the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. **Journal of Environmental Science and Health B**, v.41, p.43-55, 2006.
- ARAÚJO, C.S. et al. Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from leaves of *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). **Pharmacognosy Magazine**, v.11, n.43, p.615-618, 2015.
- ARAÚJO, M.J.C. et al. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, v.57, n.2, p.139-155, 2012.

ASLAN, İ. et al. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial and Crops and Products**, n.19, p.167-173, 2004.

ATTIA, S. et al. Acaricidal activity of 31 essential oils extracted from plants collected in Tunisia. **Journal of Essential Oil Research**, v.24, p.279-288, 2012.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446-475, 2008.

ÇALMAŞUR, O.; ASLAN, I.; ŞAHİN, F. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. **Industrial Crops and Products**, v.23, p.140-146, 2006.

CARVALHO-FILHO, J.L. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p.24-30, 2006.

CAVALCANTI, S.C.H. et al. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology**, v.101, n.2, p.829-832, 2010.

CHATROU, L.W. et al. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.169, p.5-40, 2012.

CHAVAN, M.J.; WAKTE, P.S.; SHINDE, D.B. Analgesic and anti-inflammatory activities of the sesquiterpene fraction from *Annona reticulata* L. bark. **Natural Product Research**, v.26, n.16, p.1515-1518, 2012.

CHOI W.I. et al. Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). **Journal of Economic Entomology**, v.97, p.553–558, 2004.

COSTA, E.V. et al. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and larvicidal activities of the essential oils of *Annona salzmannii* and *A. pickelii* (Annonaceae). **Natural Product Communications**, v.6, n.6, p.907-912, 2011.

COSTA, E.V. et al. Essential Oil from the leaves of *Annona vepretorum*: chemical composition and bioactivity. **Natural Product Communications**, v.7, n.2, p.265-266, 2012.

COSTA, E.V. et al. Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). **Química Nova**, v.32, n.1, p.78-81, 2009.

DUTRA L.M. et al. Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.41, p.115–118, 2012.

- EL-SHARABASY, H.M. Acaricidal activities of *Artemisia judaica* L. extracts against *Tetranychus urticae* Koch and its predator *Phytoseiulus persimilis* Athias Henriot (Tetranychidae: Phytoseiidae). **Journal of Biopesticides**, v.3, n.2, p.514-519, 2010.
- GERSON, U.; WEINTRAUB, P.G. Mites (Acari) as a factor in greenhouse management. **Annual Review Entomology**, v.57, p.229-47, 2012.
- HINCAPIÉ LI, C.A.; LÓPEZ, G.E.; TORRES, R. Comparison and characterisation of garlic (*Allium sativum* L.) bulbs extracts and their effect on mortality and repellency of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.68, n.4, p.317-327, 2008.
- HUSSEIN, H. et al. Repellency and toxicity of extracts from *Capparis aegyptia* L. to *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae). **Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica**, v.41, p.331-340, 2006.
- ISMAN, M.B. Plant essential oils as green pesticides for pest and disease management. **Agricultural Applications in Green Chemistry, ACS Symposium Series**, v.887, p. 41-51, 2004.
- ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v.19, p.603-608, 2000.
- ISMAN, M.B. The role of botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45-66, 2006.
- ISMAN, M.B.; MACHIAL, C.M. Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. In: RAI, M.; CARPINELLA, M.C. (eds.), **Naturally Occurring Bioactive Compounds**, Elsevier, BV, 2006. p.29–44.
- ISMAN, M.B.; MIRESMAILLI, S. Plant essential oils as repellents and deterrents to agricultural pests. In: PALUCH, G., et al. **Recent developments in invertebrate repellents**. American Chemical Society. Washington, DC, 2011. p.67-77.
- ISMAN, M.B.; MIRESMAILLI, S.; MACHIAL, C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Reviews**, v.10, p.197-204, 2011.
- JIANG, Z.L.; AKHTAR, Y.; BRADBURY, R. Comparative toxicity of essential oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and blends of their major constituents against the cabbage looper *Trichoplusia ni*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.4833-4837, 2009.
- KNAAK N.; FIUZA, L.M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, v.5, n.2, p.120-132, 2010.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.36, p.225-242, 2014.

KUMRAL, N.A.; COBANOGLU, S.; YALCIN, C. Acaricidal, repellent and oviposition deterrent activities of *Datura stramonium* L. against adult *Tetranychus urticae* (Koch). **Journal of Pest Science**, v.21, p.23-30, 2009.

LABORDA, R. et al. Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Industrial Crops and Products**, v.48, p.106-110, 2013.

LEYVA, M. et al. Actividad larvica de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Revista Biomedica**, v.20, p.5-13, 2009.

MASOTTI, V. et al. Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p. 7115-7121, 2003.

MEIRA, C.S. et al. Chemical composition of essential oils from *Annona vepretorum* Mart. and *Annona squamosa* L. (Annonaceae) leaves and their antimalarial and trypanocidal activities. **Journal of Essential Oil Research**, v.27, n.2, p.160-168, 2015.

MIRESMAILLI, S.; BRADBURY R.; ISMAN, M.B. 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 Management Science**, v.62, n.4, p.366-371, 2006.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M.B. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. **Journal of Economic Entomology**, v.99, p.2015-2023, 2006.

MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. Manual de acarologia: Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos, 2008. 308p.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.2, p.4050-4063, 2009.

MOTAZEDIAN, N.; RAVAN, S.; BANDANI, A.R. Toxicity and repellency effects of three essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal of Agricultural Science and Technology**, v.14, p.275-284, 2012.

NICASTRO, R.L.; SATO, M.E.; SILVA, M.Z. da. Milbemectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin. **Experimental and Applied Acarology**, v.50, p.231-241, 2010.

OMAR, A.N.; EL SAYED, I.A.Z.; ROMEH, A.A. Chemical constituents and biocidal activity of the essential oil of *Mentha spicata* L. grown in Zagazig

region, Egypt. **Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v.6, p.1089-1097, 2009.

OWOLABI, M.S. et al. The Cytotoxic Activity of *Annona muricata* Leaf Oil from Badagary, Nigeria. **American Journal of Essential Oil and Natural Product**, v.1, n.1, p.1-3, 2013.

PEREZ-HERNANDEZ, N. et al. Spasmolytic effect of constituents from *Lepechinia caulescens* on rat uterus. **Journal Ethnopharmacology**, v.115, p.30-35, 2008.

PONTES, W. et al. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oils from fruits and leaves of *Protium bahianum* Daly. **Journal of Essential Oil Research**, v.22, p.279-28, 2010.

RÍOS, M.Y. et al. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from *Annona cherimola* (Annonaceae). **Revista de la Sociedad Química de México**, v.47, n.2, 139-142, 2003.

ROH, H.S.; LEE, B.H.; PARK, C.G. Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v.16, p.245-249, 2013.

ROH, H.S. et al. Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal Pest Science**, Tokyo, v.84, p.495-501, 2011.

SILVA, J.C. **Efeito antinociceptivo e anti-inflamatório de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae) em roedores**. 2013. 183f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2013.

SIQUEIRA, C.A.T. et al. Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriacea* and *in vitro* antiprotozoal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.21, n.1, p.33-40, 2011.

TEAM, R.C. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2016. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: junho 2016.

THANG, T.D. et al. Study on the volatile oil contents of *Annona glabra* L., *Annona squamosa* L., *Annona muricata* L. and *Annona reticulata* L., from Vietnam. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v.27, n.13, p. 1232-1236, 2013.

TRIGO, J.R. et al. Óleos essenciais de espécies de Annonaceae que ocorrem no Pará: *Guatteria schomburgkiana* Mart. e *Pseudoxandra cuspidata* Maas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.3, p.113-116, 2007.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v.11, n.463-471, 1963.

VAN LEEUWEN, T. et al. Organophosphate insecticides and acaricides antagonise bifenazate toxicity through esterase inhibition in *Tetranychus urticae*. **Pest Management Science**, Malden, v.63, p.1172–1177, 2007.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Annona vepretorum é uma espécie pouco estudada e não há relatos do seu uso no controle de pragas. Esse estudo apresentou, pela primeira vez, a avaliação da toxicidade de extratos orgânicos e óleo essencial dessa espécie contra artrópodes.

Os resultados obtidos mostram que extratos e óleos de *A. vepretorum* são tóxicos para *Tetranychus urticae*. O extrato metanólico destaca-se como mais tóxico, quando comparado com o extrato hexânico. Além de causarem a morte, os extratos orgânicos também têm efeito sobre parâmetros reprodutivos e são altamente repelentes.

Os constituintes majoritários dos óleos essenciais de folhas de *A. vepretorum* são o espatulenol (coleta de junho/2015) e o biciclogermacreno (coleta de fevereiro/2016). Os óleos coletados nas diferentes épocas mostram resultados semelhantes quanto a ação fumigante, porém, em menores concentrações, o óleo referente à época 1, apresenta maior eficiência. É possível concluir que *T. urticae* é muito mais suscetível ao óleo essencial através de testes por fumigação em relação ao efeito de contato.

Em resumo, *A. vepretorum* mostrou-se uma espécie interessante do ponto de vista biológico, exibindo perfis de atividade acaricida. Essas atividades provavelmente estão relacionadas aos constituintes químicos presentes nessa espécie vegetal. Dessa forma, destacamos o ineditismo desse estudo quanto à investigação do potencial acaricida dessa espécie, além da contribuição para o conhecimento quimiotaxonômico do gênero *Annona* e da família Annonaceae.

Os produtos naturais abordados neste trabalho são possíveis alternativas aos agrotóxicos convencionais e podem fazer parte de uma nova geração de compostos biologicamente ativos com potencial de uso no manejo integrado de *T. urticae*. No entanto, outros estudos precisam ser realizados a fim de avaliar a suscetibilidade do ácaro a extratos e óleos essenciais de *A. vepretorum* sob condições de campo e semi-campo. Além disso, é importante avaliar os efeitos toxicológicos desses extratos e óleos provenientes de outras estruturas da planta.