

ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS)  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI:  
TETRANYCHIDAE)

por

MÁRIO JORGE CERQUEIRA DE ARAÚJO

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

RESUMO

Diante dos problemas causados pelo uso indiscriminado de produtos sintéticos, os óleos essenciais são uma alternativa para uso no manejo de pragas. Assim, o objetivo deste trabalho é investigar se misturas binárias dos óleos essenciais de folhas de *Piper aduncum* (PA), *Melaleuca leucadendron* (ML), *Lippia sidoides* (LS) e *Schinus terebinthifolius* (ST) e de frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *S. terebinthifolius* potencializam seus efeitos em *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e *Tetranychus urticae* Kock (Acari: Tetranychidae). Sobre *P. xylostella*, por ação residual e deterrência alimentar, o inseticida Premio<sup>®</sup> (controle positivo), foi mais tóxico (CL<sub>50</sub>=0,001µL/mL e CD<sub>50</sub>=0,0026µL/mL). Entre os óleos, PA revelou maior toxicidade residual e deterrência (CL<sub>50</sub>=0,31µL/mL e CD<sub>50</sub>=1,08µL/mL). A toxicidade e deterrência dos constituintes individuais indicaram como mais ativos Dilapiol e Carvacrol (CL<sub>50</sub>=1,01µL/mL e CD<sub>50</sub>=0,075µL/mL). Entre misturas, PA+LS (50-50%) e PA+LS (25-75%) foram as mais tóxicas (CL<sub>50</sub>=3,93 e 4,48µL/mL, respectivamente), enquanto PA+LS (25-75%) mostrou-se a mais deterrente (CD<sub>50</sub>=3,23µL/mL). Efeito sinergista foi obtido por ação residual com LS+ST (75-25%). Sobre *T. urticae*, os controles positivos eugenol e Vertimec<sup>®</sup> 18 EC, foram os mais tóxicos por fumigação e residual (CL<sub>50</sub>=0,003µL/L ar e 0,0006µL/mL, respectivamente). Entre as misturas, as mais fumigantes foram ML+PA (50-50%) e PA+SM (50-50%) (CL<sub>50</sub>=0,15 e

0,23µL/L ar, respectivamente), enquanto ML+SM (50-50%) promoveu maior efeito residual (CL<sub>50</sub>=6,95µL/mL). Nenhuma mistura revelou sinergismo, sendo aditiva apenas ML+SM (50-50%) por ação residual. A ação dos óleos/misturas sobre a fecundidade de *T. urticae* também foi discutida. Todos os óleos foram considerados pouco prejudiciais a *Neoseiulus californicus* por fumigação, enquanto a ação residual revelou óleos inofensivos. Testes em casa de vegetação indicaram que, após 72h, a mistura ML+SM (50-50%) promoveu a mesma toxicidade do acaricida sintético. Estes resultados indicam que misturas de óleos essenciais podem potencializar seus efeitos, sendo boas alternativas para uso em formulações no manejo integrado de *P. xylostella* e *T. urticae*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Sinergismo, produto natural, ácaro rajado, traça-das-crucíferas, acaricida botânico, inseticida botânico.

ESSENTIAL OILS FOR *Plutella xylostella* (LINNAEUS) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)  
AND *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) CONTROL

por

MÁRIO JORGE CERQUEIRA DE ARAÚJO

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

ABSTRACT

Given the problems caused by the indiscriminate use of synthetic products, essential oils are an alternative for use in pest management. The objective of this study is to investigate whether binary mixtures of essential oils of *Piper aduncum* (PA), *Melaleuca leucadendron* (ML), *Lippia sidoides* (LS) and *Schinus terebinthifolius* (ST) leaves and green (SV) and ripe (SM) fruits of *S. terebinthifolius* potentiate their effects on *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) and *Tetranychus urticae* Kock (Acari: Tetranychidae). About *P. xylostella*, residual and feeding deterrence action, Premio<sup>®</sup> insecticide (positive control) was more toxic ( $LC_{50}=0.001\mu\text{L}/\text{mL}$  and  $DC_{50}=0.0026\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Among the oils, PA showed a higher residual toxicity and deterrent ( $LC_{50}=0.31\mu\text{L}/\text{mL}$  and  $DC_{50}=1.08\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Toxicity and deterrence of the individual constituents indicated as the most active Dilapiol and Carvacrol ( $LC_{50}=1.01\mu\text{L}/\text{mL}$  and  $DC_{50}=0.075\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Among mixtures, PA+LS (50-50%) and PA+LS (25-75%) were the most toxic ( $LC_{50}=3.93$  and  $4.48\mu\text{L}/\text{mL}$ , respectively), while PA+LS (25-75%) proved to be the most deterrent ( $DC_{50}=3.23\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Synergistic effect was obtained only by residual action by LS+ST (75-25%). About *T. urticae*, eugenol e Vertimec<sup>®</sup> 18 EC (positive controls), were the most toxic by fumigation and residual ( $LC_{50}=0.003\mu\text{L}/\text{L}$  air and  $0.0006\mu\text{L}/\text{mL}$ , respectively). Among the mixtures, the most fumigantes were ML+PA (50-50%) and PA+SM (50-50%) ( $LC_{50}=0.15$  and

0.23 $\mu$ L/L air, respectively), while ML+SM (50-50%) promoted greater residual effect (LC<sub>50</sub>=6.95 $\mu$ L/mL). No mixture revealed synergism, being additive only ML+SM (50-50%) by residual action. The action of oils/mixtures on fecundity of *T. urticae* was also discussed. All oils were considered slightly harmful to *Neoseiulus californicus* by fumigation, while the residual action revealed harmless oils. Tests in a greenhouse indicated that after 72h, ML+SM (50-50%) promoted the same toxicity of synthetic acaricide. These results suggest that mixtures of essential oils may enhance its effects, being good candidates for use in formulations in the integrated management of *P. xylostella* and *T. urticae*.

**KEY WORDS:** Synergism, natural product, two-spotted spider mite, diamondback moth, botanical acaricide, botanical insecticide.

ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS)  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI:  
TETRANYCHIDAE)

por

MÁRIO JORGE CERQUEIRA DE ARAÚJO

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

RECIFE - PE

Fevereiro - 2015

ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS)  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI:  
TETRANYCHIDAE)

por

MÁRIO JORGE CERQUEIRA DE ARAÚJO

Comitê de Orientação:

Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Clécio Souza Ramos – UFRPE

ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS)  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI:  
TETRANYCHIDAE)

por

MÁRIO JORGE CERQUEIRA DE ARAÚJO

Orientador: \_\_\_\_\_  
Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Examinadores: \_\_\_\_\_  
Clécio Souza Ramos – UFRPE

\_\_\_\_\_  
Iracilda Maria de Moura Lima – UFAL

\_\_\_\_\_  
Aleuny Coutinho Reis – PNP/CAPE/UFPE

\_\_\_\_\_  
Carla Patrícia O. de Assis – PNP/CAPE/UFPE

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Plínio (in memoriam) e Iracema (in memoriam), por todos os ensinamentos, incentivos e exemplos de que o estudo, o trabalho e a honestidade são fundamentais para a minha formação e a Flávia, pelo seu apoio e companheirismo durante toda a nossa caminhada.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus que esteve e sempre estará presente nestas e em outras caminhadas da minha vida, me iluminando e dando forças para seguir em frente.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola pela oportunidade de concretizar este trabalho.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos meus pais Plínio (*in memoriam*) e Iracema (*in memoriam*), a quem serei sempre grato, pelo seu amor e por todos os seus ensinamentos.

A Flávia Born, minha companheira em todos os momentos, me apoiando e incentivando sempre a seguir em frente.

Aos meus sogros Carlos e Rosaide Born, e minhas cunhadas Mônica e Cláudia Born, por todo apoio e incentivo a enfrentar todos os obstáculos.

Ao professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara, pela orientação, por todos os ensinamentos e pela confiança em meu trabalho.

A todos os docentes, pelos ensinamentos, especialmente ao Prof. José Vargas de Oliveira, pelo apoio e pela grande amizade e ao Prof. Edmilson Jacinto Marques, por estar sempre disponível em ajudar.

Ao Prof. Reginaldo Barros, pela disponibilidade e por permitir que parte do trabalho fosse realizada no Laboratório de Biologia de Insetos.

Ao Prof. Jorge Braz Torres e aos colegas Wagner Melo e Douglas Barbosa por retirar dúvidas na parte estatística do trabalho.

A Prof. Iracilda Maria de Moura Lima, da Universidade Federal de Alagoas, pela grande amizade e por me incentivar a fazer pós-graduação.

Aos amigos do PPGEA, Sérgio Monteze Alves, Aline Fonseca do Nascimento, Maurício Silva Lima, Mauricéa Fidelis de Santana e Alberto Belo Esteves Filho, pelo apoio nos momentos difíceis e pelos momentos alegres que partilhamos.

Aos secretários da Fitossanidade, Darci Martins Correia da Silva, Marcello Fernandes Medeiros, e José Romildo Nunes Angeiras, pela disponibilidade quando necessário.

Aos alunos do LPNBIO, Roberta Neves, Priscilla Botelho, Gesiane Lima e Milena da Silva, pela ajuda na obtenção dos óleos essenciais.

Ao Luís Coelho, pela ajuda na casa de vegetação.

## SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS .....	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO .....	1
Óleos Essenciais no Controle de Pragas Agrícolas .....	1
Uso de Produtos Naturais para o Controle de <i>Plutella xylostella</i> (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) .....	8
Uso de Produtos Naturais para o Controle de <i>Tetranychus urticae</i> Koch (Acari: Tetranychidae).....	13
LITERATURA CITADA.....	20
2 ATIVIDADE SINERGISTA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E AÇÃO INSETICIDA DE CONSTITUINTES QUÍMICOS INDIVIDUAIS EM <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).....	29
RESUMO .....	30
ABSTRACT .....	31
INTRODUÇÃO .....	32
MATERIAL E MÉTODOS .....	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
AGRADECIMENTOS.....	53
LITERATURA CITADA.....	53

3	POTENCIAL ACARICIDA DE MISTURAS BINÁRIAS DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE <i>Tetranychus urticae</i> KOCH (TETRANYCHIDAE) E <i>Neoseiulus californicus</i> MCGREGOR (PHYTOSEIIDAE).....	65
	RESUMO .....	66
	ABSTRACT .....	67
	INTRODUÇÃO .....	68
	MATERIAL E MÉTODOS .....	69
	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	76
	AGRADECIMENTOS.....	86
	LITERATURA CITADA.....	87
4	PEDIDO DE DEPÓSITO DE PATENTE – PRODUTO A BASE DE UMA MISTURA NATURAL CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS COM EFEITOS SINÉRGICOS E ADITIVOS PARA O CONTROLE DE PRAGAS AGRÍCOLAS	101

# CAPÍTULO 1

## INTRODUÇÃO

### **Óleos Essenciais no Controle de Pragas Agrícolas**

Atualmente, a forma mais utilizada para o controle de pragas agrícolas é a aplicação de produtos químicos sintéticos. No Brasil, o uso destes produtos vem crescendo anualmente. Na última década, enquanto o mercado mundial de agrotóxicos aumentou 93%, o mercado brasileiro atingiu um crescimento de 190% e, a partir de 2008, o Brasil assumiu a posição de maior consumidor mundial de agrotóxicos, ultrapassando os Estados Unidos da América até os dias atuais (Cassal *et al.* 2014).

Embora inicialmente estes produtos sejam eficientes, com o passar do tempo, para que se consiga o controle, uma quantidade cada vez maior de aplicações passa a ser necessária. Como conseqüências, esse uso indiscriminado tem selecionado populações de insetos resistentes aos inseticidas (Thuler *et al.* 2007).

Já se encontra estabelecido que, quanto maior eficiência e sucesso com o uso destes produtos, maior é a probabilidade de seleção de populações resistentes das pragas (Onstad 2014). Além disso, nos casos de uso inadequado pode ainda haver sérios impactos no meio ambiente, com a contaminação dos alimentos, toxicidade aos mamíferos e persistência no solo (Céspedes *et al.* 2006).

Diante destes problemas, é fundamental a busca por novas técnicas e métodos com base no princípio norteador do manejo ecológico de pragas, através da utilização de produtos seletivos aos inimigos naturais e menos agressivos ao meio ambiente. Nesse sentido, o crescente interesse na utilização de produtos de origem natural para o manejo de pragas na agricultura tem incentivado

cada vez mais a busca por novas moléculas bioativas originadas dos metabólitos secundários das plantas (Céspedes *et al.* 2006). A importância da sua aplicação na agricultura, em parte, se deve ao fato de que estes produtos podem ser explorados de duas formas: (1) indireta, na síntese de novas substâncias ou, ainda, (2) produtos comerciais obtidos diretamente da extração (Pillmoor *et al.* 1993).

Estes metabólitos secundários são compostos produzidos e acumulados pelas plantas (Wink 2006). Estas substâncias estão envolvidas na adaptação das plantas ao ambiente. Diferentes funções ecológicas podem ser atribuídas a muitas destas substâncias voláteis, como atuar na polinização e dispersão de sementes, na interação com outros organismos, além de importante papel na defesa direta das plantas contra herbívoros ou indireta por meio da atração de inimigos naturais (Franz & Novak 2010, Nascimento & Fett-Neto 2010).

As moléculas podem ser obtidas de diferentes partes do vegetal na forma de pós, extratos aquosos ou por meio de solventes orgânicos, óleos fixos e óleos essenciais. Entre estes se destacam os óleos essenciais, formados por misturas complexas de compostos voláteis como monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides, ésteres e outras substâncias, os quais são responsáveis pelos odores e sabores característicos das plantas aromáticas (Isman & Machial 2006). Eles podem ser obtidos a partir das folhas, flores, cascas ou qualquer outra parte das plantas aromáticas, através de vários processos, dos quais o mais utilizado é o de hidrodestilação.

Três aspectos chamam a atenção para o uso dos produtos derivados de óleos essenciais na agricultura: o primeiro é a baixa toxicidade aos mamíferos (Isman 2000); segundo, de forma geral, eles são mais rapidamente degradados no ambiente do que os produtos sintéticos; e, terceiro, alguns podem ser seletivos, característica que favorece os organismos benéficos.

Outra característica importante atribuída aos óleos essenciais é a sua complexa composição química, a qual pode variar de acordo com diversos fatores como a parte da planta do qual é

extraído, seu estado fenológico, a época do ano e as variações de solo e climáticas (Isman & Machial 2006). Em parte esta variação ocorre porque, embora alguns compostos possam ser produzidos por todos os tecidos da planta, outros são específicos de determinadas células. Além disso, um fato interessante também é observado: nem sempre o local de síntese é o mesmo do armazenamento (Wink 2006).

A complexidade dos compostos presentes em um óleo essencial apresenta duas vantagens principais. A primeira está relacionada a uma reduzida possibilidade deste produto selecionar populações de pragas resistentes; a segunda é que os óleos essenciais podem atuar sobre os artrópodes por diferentes meios. As formas pelas quais atuam são representadas pela toxicidade, por fumigação, contato, efeito residual, ou ainda através de alterações no comportamento da praga, causando repelência, deterrência de oviposição e alimentar (Jemâa *et al.* 2013, Koul *et al.* 2013, Kumrungsee *et al.* 2014).

As características apresentadas pelos óleos essenciais, aliadas a sua alta volatilidade, permitem o seu uso na agricultura como alternativa aos inseticidas/acaricidas químicos sintéticos. Diante dessa possibilidade, nos últimos anos, os óleos essenciais têm sido alvo de diversos estudos visando ao desenvolvimento de produtos para uso no manejo ecológico de pragas (Isman 2000). Estas pesquisas têm sido realizadas com duas finalidades: determinação do nível de toxicidade; e/ou identificação do efeito de óleos essenciais e constituintes químicos individuais sobre o comportamento de diferentes pragas.

O levantamento bibliográfico realizado no SciFinder em novembro/dezembro de 2014 tendo como entrada a expressão “essential oil *Piper aduncum*” revelou 51 artigos, dos quais apenas um aborda a ação do óleo essencial em *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Entre os demais artigos encontrados, apenas oito apresentam estudos sobre ação inseticida. Destes, cinco artigos registram o efeito do óleo essencial em diferentes espécies de mosquitos.

O óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) foi pesquisado quanto a sua ação tóxica em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) (Oliveira *et al.* 2013). Também sobre este inseto, Rafael *et al.* (2008) investigaram os efeitos do Dilapiol extraído do óleo essencial de *P. aduncum* sobre a sobrevivência, reprodução e alterações no genoma do mosquito.

Almeida *et al.* (2009) verificaram a toxicidade do óleo essencial das partes aéreas de *P. aduncum* sobre adultos e larvas dos Culicidae (Diptera) *Anopheles marajoara* Galvão & Damasceno e *A. aegypti*. Os efeitos de *knockdown* e tóxicos do óleo das folhas de *P. aduncum* foram apresentados por Misni *et al.* (2011) sobre adultos de *A. aegypti* e *A. albopictus* (Skuse). Esta última espécie também foi pesquisada por Misni *et al.* (2009) em relação ao efeito repelente promovido pelo óleo essencial das folhas de *P. aduncum*.

Outras espécies de insetos também vêm sendo investigadas quanto à ação do óleo essencial de *P. aduncum*. A toxicidade do óleo essencial das partes aéreas de *P. aduncum* foi verificada sobre a formiga *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) (Souto *et al.* 2012). A ação deste óleo também foi testada sobre a mortalidade de adultos e ninfas da barata *Periplaneta americana* (L.) (Blattodea: Blattidae) (Ling *et al.* 2009). E ainda, a influência do óleo de *P. aduncum* foi avaliada sobre o crescimento populacional do pulgão *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) (Andrade *et al.* 2012).

A revisão no SciFinder tendo como entrada a expressão “essential oil *Lippia sidoides*” revelou 84 artigos, sendo seis relacionados a insetos, três sobre a ação do óleo essencial em carrapatos e apenas um em *T. urticae*. Mais uma vez, a grande maioria dos artigos desenvolvidos sobre a atividade do óleo em insetos faz referência ao controle de mosquitos, com cinco registros.

A toxicidade fumigante do óleo essencial de quatro genótipos de *L. sidoides* em fêmeas adultas de *T. urticae* foi avaliada por Cavalcanti *et al.* (2010). Os resultados obtidos revelaram

que esta espécie apresenta alta toxicidade, com as  $CL_{50}$  estimadas variando entre 0,010 e 0,014 $\mu$ L/L de ar.

Sobre insetos, a toxicidade do óleo de *L. sidoides* foi verificada em larvas da espécie *A. aegypti* por Carvalho *et al.* (2003), Cavalcanti *et al.* (2004) e Paula *et al.* (2011). Além destes trabalhos, este óleo essencial foi testado sobre ovos, larvas e pupas de *A. aegypti* e ainda revelou baixa toxicidade em ratos - *Mus musculus* (L.) (Rodentia: Muridae) (Lima *et al.* 2013a). Em larvas de diferentes gêneros pertencentes a ordem Odonata, o óleo essencial das folhas de *L. sidoides* foi avaliado quanto a toxicidade em *Acanthagrion* sp., *Homeoura* sp., *Ischnura* sp. e *Oxyagrion* sp. (Odonata: Coenagrionidae) (Silva *et al.* 2014). Sobre cupins, a ação tóxica do óleo essencial de *L. sidoides* foi pesquisada em *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) (Termitidae: Nasutitermitinae) por Lima *et al.* (2013b).

Em relação aos efeitos do óleo essencial de *L. sidoides* em carrapatos (Acari: Ixodidae) de importância veterinária, Gomes *et al.* (2014) revelaram a atividade tóxica do óleo em larvas e ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) e *Amblyomma cajennense* (Fabricius). Outra espécie de carrapato investigada quanto aos efeitos do óleo essencial das folhas de *L. sidoides* foi *Rhipicephalus microplus* (Canestrini). Os autores avaliaram a mortalidade de fêmeas ingurgitadas quando expostas ao óleo (Monteiro *et al.* 2014). Trabalho semelhante foi realizado por Gomes *et al.* (2012). Os autores pesquisaram a toxicidade do óleo essencial das folhas de *L. sidoides* em larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* e em larvas de *Dermacentor nitens* Neumann (Acari: Ixodidae).

Quando utilizado o termo “essential oil *Melaleuca leucadendron*” na revisão realizada no SciFinder, apenas 28 artigos foram revelados. Apenas dois registros foram levantados sobre insetos e um sobre ácaro. Na pesquisa realizada com ácaro, os óleos essenciais das folhas de *Melaleuca leucadendron* L. (Myrtaceae) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) foram

testados por fumigação sobre as espécies *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) e *Suidasia pontifica* Oudemans (Acari: Astigmata). Segundo os autores, o óleo de *M. leucadendron*, em 50µL/L de ar, promoveu mortalidades abaixo de 50% em ambas as espécies de ácaros e as curvas de concentração-mortalidade para este óleo não foram estimadas. Por outro lado, as CL<sub>50</sub> estimadas para o óleo de *S. terebinthifolius* revelaram que o óleo apresentou a mesma toxicidade em *T. putrescentiae* e *S. pontifica* (CL<sub>50</sub> de 8,25 e 4,87µL/L de ar, respectivamente) (Assis *et al.* 2011).

Os dois artigos desenvolvidos com insetos fazem referência ao uso do óleo essencial de *M. leucadendron* para o controle do mosquito *A. aegypti*. Noosidum *et al.* (2008) verificaram as propriedades repelentes e tóxicas do óleo essencial das folhas de *M. leucadendron*. O efeito do óleo de *M. leucadendron* e da mistura deste óleo com *Litsea cubeba* e *Litsea salicifolia* (Nees) (Lauraceae) para determinar o efeito sinergista, foi verificado a partir da mortalidade e da repelência em *A. aegypti* (Noosidum *et al.* 2014).

A busca com termo “essential oil *Schinus terebinthifolius*” no SciFinder revelou 46 referências. Apenas três artigos investigaram a ação do óleo essencial em insetos. Além destes, dois trabalhos verificaram sua atividade em ácaros, um sobre *T. putrescentiae* e *S. pontifica*, citado acima, e outro em *T. urticae*.

O óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius* foi pesquisado quanto a sua toxicidade em larvas do mosquito *Stegomyia aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) (Silva *et al.* 2010). Kweka *et al.* (2011) verificaram os efeitos tóxicos dos óleos dos frutos e sementes de *S. terebinthifolius* em condições de laboratório, casa de vegetação e campo sobre *Anopheles gambiae* Giles, *An. arabiensis* Patton e *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae). Em pragas de grãos armazenados, o óleo dos frutos de *S. terebinthifolius* foi avaliado em testes de fumigação e contato sobre *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) (Mohamed & Abdelgaleil 2008).

Apesar dos relatos na literatura sobre os aspectos tóxicos e de ação comportamental dos óleos essenciais em artrópodes-praga, apenas nas últimas décadas estes produtos foram reconhecidos como inseticidas comerciais (Isman & Machial 2006). Óleos essenciais como ingredientes ativos em formulações para o controle de pragas são comercializados pela empresa Norte Americana “EcoSMART Technologies”, que utiliza óleos extraídos de plantas como *Cinnamomum zeylanicum* L. (Lauraceae) (canela), *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (Poaceae) (citronela), *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry (Myrtaceae) (cravo da Índia), *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) (alecrim), *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) (hortelã pimenta) e *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) (tomilho) (Isman *et al.* 2010).

Uma vez que os efeitos de óleos essenciais sobre pragas agrícolas já são reconhecidos pela comunidade científica, vale destacar que a atividade destes óleos ainda pode ser potencializada através de misturas de diferentes óleos essenciais. Este fato pode ser considerado porque existem evidências que, dentro do conjunto de compostos químicos que as plantas utilizam na sua defesa, existem constituintes presentes em menores quantidades que podem atuar como sinergistas através de diversos mecanismos, aumentando o efeito de constituintes majoritários (Akhtar & Isman 2012). O mesmo pode ocorrer para o controle de artrópodes-praga quando os diferentes constituintes de dois óleos essenciais são combinados.

Segundo Hertzberg & MacDonell (2002), o sinergismo ocorre quando o efeito de substâncias combinadas é maior do que as suas contribuições individuais. Por outro lado, o efeito aditivo de uma mistura corresponde a soma dos efeitos das substâncias individuais, enquanto o antagonismo indica que o efeito da combinação é inferior ao das substâncias individuais.

A grande vantagem de se obter sinergismo entre diferentes óleos essenciais é que, utilizando menores quantidades do produto, os impactos ao meio ambiente e os custos para o controle de determinada praga podem ser reduzidos. Além disso, o risco de seleção de populações de pragas

resistentes é reduzido em comparação a um único ingrediente ativo (Akhtar & Isman 2012). No entanto, poucos relatos são encontrados na literatura sobre a ação de misturas de diferentes óleos essenciais para o controle de pragas e sobre a atividade de misturas de constituintes químicos com a mesma finalidade (Hummelbrunner & Isman 2001, Koul *et al.* 2013, Kumrungsee *et al.* 2014).

### **Uso de Produtos Naturais para o Controle de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) é uma praga das brássicas que apresenta grande importância econômica no Brasil e no mundo. Esta espécie apresenta uma grande capacidade reprodutiva onde cada fêmea pode ovipositar cerca de 200 ovos. Além disso, é uma espécie oligófaga, cosmopolita e multivoltina, com quatro a 20 gerações ao ano em regiões de clima temperado e tropical (Lingappa *et al.* 2004, Sarfraz & Keddie 2005). Devido a estas características, de curto ciclo de vida e alto potencial reprodutivo, se não houver controle, esta praga pode ser considerada como um fator limitante as crucíferas (Ulmer *et al.* 2002), pois as perdas podem superar 90% no caso de altas infestações (Verkerk & Wright 1996).

As injúrias provocadas por *P. xylostella* ocorrem devido ao seu hábito alimentar, no qual as larvas consomem todo o tecido foliar das plantas, causando depreciação do produto, atraso no desenvolvimento e podendo até mesmo ocasionar a sua morte (Monnerat *et al.* 2004).

Objetivando reduzir esses prejuízos, o seu manejo vem sendo realizado através de táticas culturais, de controle biológico e, principalmente por meio de inseticidas químicos sintéticos, sendo aqueles pertencentes aos grupos dos piretróides e organofosforados os mais utilizados (Sarfraz *et al.* 2006, Cheng *et al.* 2008, Furlong *et al.* 2013). Atualmente, Clorantniliprole, um novo princípio ativo pertencente ao grupo químico das diamidas antranílicas também está sendo

utilizado para o controle de *P. xylostella*. Este inseticida químico sintético possui características como seletividade e baixa toxicidade aos mamíferos (EPA 2008, Brugger *et al.* 2010).

Embora bastante eficientes para o controle de insetos-praga, o uso destes produtos químicos sintéticos de forma inadequada tem levado à seleção de populações resistentes de *P. xylostella* em várias regiões do mundo (Castelo Branco & França 2001). Esta espécie pertence a um restrito grupo de insetos que já desenvolveu resistência a todas as principais classes de inseticidas, inclusive as formulações contendo *Bacillus thuringiensis* Berliner (Sarfraz & Keddie 2005, Zago *et al.* 2013).

A resistência de *P. xylostella* a 82 diferentes compostos foi registrada em 2012 pelo Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD) (Furlong *et al.* 2013). Vale ressaltar que casos de resistência ao mais recente princípio ativo, Clorantraniliprole, já foram registrados para diferentes populações de *P. xylostella*, inclusive no Estado de Pernambuco (Trocza *et al.* 2012, Wang & Wu 2012, Ribeiro *et al.* 2013, Gong *et al.* 2014).

Além de todos os problemas ocasionados pelo uso dos produtos químicos sintéticos no controle de *P. xylostella*, esta prática pode atingir altos custos. Em brássicas os gastos anuais são estimados em US\$ 1,4 bilhões, podendo chegar a US\$ 2,7 bilhões se forem consideradas as perdas em campo (Furlong *et al.* 2013).

Com base no exposto, muitos estudos visando métodos alternativos para o controle de *P. xylostella* vem sendo realizados no Brasil e no mundo, incluindo pesquisas com produtos de origem botânica. No entanto, a literatura sobre o uso de óleos essenciais no controle de *P. xylostella* é bastante reduzida e nenhum relato foi encontrado sobre os efeitos tóxicos ou comportamentais dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* sobre esta espécie.

Entre as espécies botânicas investigadas sobre o potencial de seus óleos essenciais no controle de *P. xylostella*, *Mikania micrantha* Kunth (Asteraceae) e seus constituintes químicos individuais o Limoneno, o  $\alpha$ -Terpinene, o Linalool, o  $\beta$ -Caryophyleno e o Verbenone foram pesquisados por meio de repelência e deterrência de oviposição (Zhang *et al.* 2004). O óleo essencial causou significativo efeito repelente (79,30%) em olfatômetro com uma taxa de fluxo de 180 mL/min. Ainda em relação a ação repelente, os constituintes mais ativos foram o Limoneno e o  $\alpha$ -Terpinene, com taxas de repelência de 63,98 e 54,97%, respectivamente, em 100mL/min. Quanto a deterrência de oviposição, o óleo essencial reduziu significativamente o número de ovos na concentração de 5  $\mu$ L/planta e, entre os constituintes, o Linalool e o  $\alpha$ -Terpinene foram os mais deterrentes. Por outro lado, os autores observaram que o Verbenone e o  $\beta$ -Caryophyleno não apresentaram efeito significativo na repelência ou deterrência de oviposição de *P. xylostella*.

O efeito residual dos óleos essenciais de *Berberis lycium* L. (Berberidaceae), *Hedera nepalensis* L. (Araliaceae), *Acorus calamus* L. (Araceae), *Zanthoxylum armatum* L. (Rutaceae) e *Valeriana jatamansi* L. (Valerianaceae) em larvas de segundo ínstar de *P. xylostella* foi observado por Tewary *et al.* (2005). Após 48h de exposição, os óleos do rizoma de *A. calamus*, das folhas de *Z. armatum* e da planta inteira de *V. jatamansi*, todos na concentração de 10.000ppm, promoveram mortalidades de apenas 30; 42 e 25% das larvas, respectivamente. Ação residual também foi estudada por Chaudhary *et al.* (2011). O óleo essencial do caule de *Cedrus deodara* (Roxb. Ex D. Don) (Pinales: Pinaceae), em larvas de segundo ínstar de *P. xylostella*, promoveu uma CL<sub>50</sub> estimada de 424,82mg/mL.

Toxicidade fumigante de óleos essenciais em *P. xylostella* também vem sendo pesquisada. Yi *et al.* (2007) analisaram 66 óleos em larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella*. Os óleos de *Mentha pulegium* e *R. officinalis* (CL<sub>50</sub> = 10,77 e 15,14mg/disco de folha de 4,25 cm de diâmetro, respectivamente) revelaram os melhores resultados após 24h de exposição.

Forte ação repelente foi registrada sobre larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella* pelo óleo essencial de partes aéreas de *Lantana camara* L. (Verbenaceae var. *aculeate*). Quando os autores avaliaram a ação de constituintes químicos individuais, os mais repelentes foram o 1,8-cineole, o linalool, o terpineol e o  $\gamma$ -terpinene. Além disso, o óleo essencial, o  $\alpha$ -pinene, o 1,8-cineole e o linalool causaram significativa deterrência de oviposição em *P. xylostella* (Sundufu *et al.* 2006).

Os efeitos tóxicos e de deterrência de oviposição do óleo essencial de *Leptospermum petersonii* (FM. Bailey) (Myrtaceae) foi pesquisado em *P. xylostella* por Purwatiningsih *et al.* (2012). A exposição ao óleo reduziu significativamente a atividade alimentar e o desenvolvimento das larvas e ainda promoveu deterrência de oviposição em adultos na concentração de 6%. Em relação à toxicidade residual, testes em larvas de terceiro ínstar promoveram CL<sub>50</sub> estimada de 2,93% sete dias após o tratamento. Além disso, a ação do óleo essencial foi verificada em condições de casa de vegetação nas concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0% e, após sete dias de exposição das larvas, o óleo causou significativo efeito na mortalidade. Os autores também avaliaram os efeitos do óleo sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), e concluíram que houve deterrência no parasitismo quando submetidos aos testes com chance de escolha, mas não houve nos testes sem chance de escolha.

O óleo comercial de frutos de *Pongamia pinnata* (L.) Pierre (Fabaceae) foi testado puro e em combinações binárias com os óleos comerciais de *T. vulgaris* e *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae) em larvas e adultos de *P. xylostella*. O óleo comercial de nim (1% de azadiractina), *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), foi usado como controle positivo. Nenhum efeito significativo foi registrado sobre a oviposição das fêmeas. Através de pulverização em larvas com 0,75% da mistura de *P. pinnata* + *T. vulgaris* e com o óleo de nim na concentração de 1,5%, após 6 dias, a mortalidade registrada foi maior do que 90%. As CL<sub>50</sub> estimadas revelaram que as duas misturas e o óleo de nim foram significativamente mais tóxicas do que o óleo de *P. pinnata* puro

(CL<sub>50</sub> de 0,28; 0,31; 0,39 e 0,79% para nim, *P. pinnata* + *T. vulgaris*, *P. pinnata* + *F. vulgare* e óleo de *P. pinnata* puro, respectivamente) (Pavela 2012).

Toxicidade por aplicação tópica do óleo de *Pogostemon* sp. (Lamiaceae) foi verificada por Silva *et al.* (2011) em larvas de *P. xylostella*. Após três dias de exposição, foi registrado o efeito do óleo essencial sobre a praga, com taxa de mortalidade acima de 60%. O óleo de mamona, *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), extraído por prensagem a frio, foi testado sobre larvas de quarto ínstar de *P. xylostella* em condições de casa de vegetação a uma concentração de 2%. Apesar de revelar uma eficiência de controle de apenas 16,9, 25,4 e 29% aos 3, 5 e 8 dias após as pulverizações, e não promover alteração na viabilidade pupal, a viabilidade das larvas foi reduzida para 55% (Rondelli *et al.* 2013).

Recentemente Kumrungsee *et al.* (2014) verificaram a ação tópica dos constituintes químicos timol, 1,8-cineol, linalool e pulegone após 24h de exposição em larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella*. Os compostos mais ativos foram timol e 1,8-cineol, com CL<sub>50</sub> de 0,22 e 0,41mg/larva, respectivamente.

Diante destes estudos, óleos essenciais e/ou constituintes químicos individuais para o controle de *P. xylostella* podem ser uma boa alternativa para utilização no manejo ecológico desta espécie. Assim, óleos essenciais de outras espécies botânicas merecem ser investigados sobre esta praga. Os óleos essenciais de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* apresentam atividade inseticida comprovada, no entanto, a ação destes óleos sobre a toxicidade e/ou comportamento alimentar de *P. xylostella* ainda não foi pesquisada. Além disso, o uso de misturas binárias destes óleos pode potencializar seus efeitos. Desta forma os óleos essenciais de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* foram selecionados no presente estudo para avaliar sua atividade letal e comportamental em *P. xylostella*.

## Uso de Produtos Naturais para o Controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

Os ácaros pertencentes à Família Tetranychidae podem ser considerados uma das pragas mais importantes em casa de vegetação e culturas em ambiente aberto no mundo (Miresmailli *et al.* 2006). Entre os representantes desta Família, o ácaro rajado, *T. urticae*, teve o seu primeiro registro em Petrolina, no estado de Pernambuco, em 1985, após o início dos cultivos irrigados naquela região (Moraes 2001).

O ciclo biológico desta espécie é curto, com um período médio de ovo a adulto de 10,5 dias para fêmeas em feijão comum, *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae), com a duração média do período embrionário de 5,0 dias. As fêmeas apresentam uma alta taxa de fecundidade, podendo cada uma ovipositar uma média de 116,3 ovos e apresentam uma longevidade de 21,0 dias em média (Silva *et al.* 1985).

Esta praga é polífaga e cosmopolita, causando sérios danos em culturas de grande interesse econômico, incluindo aquelas pertencentes às Famílias Leguminosae, Solanaceae, Caricaceae, Rosaceae, Malvaceae, Myrtaceae, Euphorbiaceae, entre outras (Flechtmann 1983, Gallo *et al.* 2002, Vassiliou & Kitsis 2013). A importância econômica desta espécie está relacionada ao seu hábito alimentar, pois os ácaros injetam o produto das glândulas salivares nas células da planta hospedeira (Moraes & Flechtmann 2008). Esta lesão celular causa a perda de clorofila, reduzindo a taxa de fotossíntese da planta (Gorman *et al.* 2002).

Em *Cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae) (pepino), seu ataque é facilmente reconhecido devido a presença de pequenas manchas brancas ou amareladas na face inferior das folhas. Com a alimentação contínua, a maior parte das folhas se torna amarelada (Park & Lee 2002). Como consequências da sua alimentação, em ataques muito intensos, podem provocar manchas

necróticas, chegando a causar rasgadura e até mesmo a queda das folhas (Moraes & Flechtmann 2008), o que resulta em uma redução na produtividade (Park & Lee 2002).

A forma mais utilizada para o seu controle é através de produtos químicos sintéticos (Vassiliou & Kitsis 2013). Atualmente os acaricidas registrados para o controle do ácaro rajado em diferentes culturas incluem piretróide, avermectina, sulfito de alquila, organofosforados, organoclorados, milbemicinas, feniltiouréia, entre outros (AGROFIT 2014). No entanto, o uso de forma inadequada de produtos químicos para o controle de ácaros possibilita efeitos indesejáveis, como citado anteriormente, resultando em impactos ao ambiente, podendo contaminar as culturas com resíduos tóxicos (Oliveira *et al.* 1999).

Além disso, seu curto ciclo biológico associado a um grande volume populacional reduzem a eficiência de muitos acaricidas sintéticos, pois permitem uma rápida seleção de populações resistentes a estes produtos (Stumpf & Nauen 2001). Até o momento, *T. urticae* apresenta resistência a 94 ingredientes ativos, a qual tem sido registrada em mais de 130 localidades, inclusive no Brasil (DARP 2014).

Diante destes problemas, diversas pesquisas sobre diferentes táticas de controle para esta espécie vêm sendo realizadas. O uso do controle biológico com ácaros predadores da família Phytoseiidae vem sendo pesquisado por Easterbrook *et al.* (2001) e Greco *et al.* (2005), nos quais o ácaro *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) apresentou eficiência no controle de *T. urticae* em morango. Outra espécie eficiente para o controle de *T. urticae* nesta cultura é *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae), o qual revelou significativas taxas de oviposição e predação em condições de laboratório (Oliveira *et al.* 2007). A espécie *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) também foi considerada eficiente para o controle de *T. urticae* em *Pelargonium peltatum* (L.) L'Her ex Ait. (Geraniaceae) (gerânio) por Opit *et al.* (2004).

Assim, uma vez que a eficiência de ácaros predadores para o controle do ácaro rajado já está comprovada, no Brasil, diferentes espécies de ácaros como *N. californicus* e *P. macropilis* vêm sendo comercializadas para uso no manejo de *T. urticae*, especialmente em culturas como morango, maçã, pêssego, gérbera e crisântemo (Collier *et al.* 2001, Sato *et al.* 2007).

O uso de fungos entomopatogênicos para o controle de *T. urticae* também vem sendo pesquisado. Os isolados *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin 442.99 e *Verticillium lecanii* 450.99, assim como os fungos isolados de biopesticidas comerciais *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin 432.99 e *Hirsutella thompsonii* (Fischer) 463.99 foram patogênicos a *T. urticae*, sendo promissores para o controle do ácaro (Chandler *et al.* 2005). Outro estudo dessa natureza foi desenvolvido por Tamai *et al.* (2002). Os autores avaliaram a patogenicidade de 45 isolados em *T. urticae* e concluíram que cinco isolados de *B. bassiana* e outros cinco de *M. anisopliae* foram altamente patogênicos e são promissores para o controle microbiano desta praga.

O uso de produtos de origem botânica para o controle de *T. urticae* também é bastante promissor e vem sendo pesquisado por muitos autores, com destaque para os óleos essenciais, inclusive os de *M. leucadendron*, *P. aduncum* e *S. terebinthifolius*. A atividade acaricida do óleo essencial das folhas de *M. leucadendron* foi investigada por Neves (2013).

O autor verificou a ação tóxica e comportamental do óleo essencial em fêmeas adultas de *T. urticae*. O óleo revelou toxicidade por fumigação e efeito residual, com  $CL_{50}$  estimadas de 0,22 $\mu$ L/L de ar e 11,04 $\mu$ L/mL, respectivamente. Além disso, o autor concluiu que o óleo de *M. leucadendron* também atua como deterrente de oviposição através de fumigação. Sobre a ação repelente do óleo essencial, os testes indicaram uma  $CR_{50}$  estimada de 0,005 $\mu$ L/cm<sup>2</sup>. Quando pesquisada a atividade do óleo sobre a preferência alimentar de *T. urticae*, após 48 h de exposição a uma concentração de 1%, as fêmeas preferiram significativamente as folhas sem tratamento, por

outro lado, a quantidade de ovos postos foi significativamente maior nas folhas tratadas com o óleo essencial.

A toxicidade do óleo essencial das folhas de *M. leucadendron* em adultos de *T. urticae* também foi estudada por Roh *et al.* (2011). Os resultados obtidos através de imersão das folhas revelaram que o óleo essencial, após 24 h de exposição, promoveu mortalidade de apenas 23,5% a uma concentração de 0,1%. Por outro lado houve uma redução da fecundidade de 13,1 para 9,5 quando expostas ao óleo essencial.

O potencial acaricida do óleo essencial das folhas de *P. aduncum* foi verificado por Araújo *et al.* (2012). A toxicidade por fumigação e efeito residual deste óleo foi testada em fêmeas adultas de *T. urticae* e as  $CL_{50}$  estimadas foram de 0,01 $\mu$ L/L de ar e 7,17 $\mu$ L/mL, respectivamente. A ação repelente do óleo essencial revelou uma  $CR_{50}$  de  $4 \times 10^{-2}$  $\mu$ L/mL. Quando avaliada a preferência alimentar das fêmeas por folhas tratadas com o óleo essencial (1%) e não tratadas, após 1 h de exposição, significativa diferença foi observada, com a maior parte dos ácaros nas folhas não tratadas. O número de ovos postos pelas fêmeas foi maior nas folhas não tratadas até 12 h de exposição.

A atividade dos óleos essenciais dos frutos verdes e maduros de *S. terebinthifolius* em fêmeas adultas de *T. urticae* foi pesquisada por Nascimento *et al.* (2012). A toxicidade por fumigação revelou uma  $CL_{50}$  de 1,46 e 6,71 $\mu$ L/L de ar para os óleos dos frutos verdes e maduros, respectivamente. Por contato residual, as  $CL_{50}$  estimadas para os óleos dos frutos verdes e maduros foram 7,44 $\mu$ L/L e 7,29 $\mu$ L/L, respectivamente. Os autores também verificaram que os óleos essenciais atuam como repelentes, obtendo  $CR_{50}$  estimadas de 0,005 e 0,003 $\mu$ L/cm<sup>2</sup> para frutos verdes e maduros, respectivamente.

Recentemente os óleos essenciais de outras espécies botânicas também vêm sendo estudados sobre *T. urticae*. Por exemplo, entre os trabalhos desenvolvidos nos últimos cinco anos,

a toxicidade aguda do óleo essencial de *Deverra scoparia* Coss. & Durieu (Apiaceae) foi verificada através de pulverização em fêmeas adultas de *T. urticae*, com um CL<sub>50</sub> estimada de 1,79mg/L. Utilizando a mesma metodologia, os autores observaram o efeito do óleo na fecundidade das fêmeas e concluíram que o número de ovos reduziu significativamente em 0,064, 0,08 e 0,26mg/L (Attia *et al.* 2011).

Método semelhante foi utilizado por El-Moneim *et al.* (2012). Neste estudo os óleos essenciais das plantas inteiras de *Marjorana hortensis* Moench. (Lamiaceae) e *Chamomilla recutita* (L.) (Asteraceae) e das folhas de *Eucalyptus* sp. (Myrtaceae) foram pulverizados sobre ovos e fêmeas adultas de *T. urticae*. Os resultados demonstraram que *C. recutita* promoveu maior efeito acaricida sobre os ácaros, seguido de *M. hortensis* e *Eucalyptus*, com CL<sub>50</sub> de 0,65, 1,84 e 2,18%, respectivamente, para adultos. O mesmo resultado foi obtido para os ovos, com CL<sub>50</sub> de 1,17, 6,26 e 7,33%, para *C. recutita*, *M. hortensis* e *Eucalyptus*, respectivamente.

Testes por fumigação e ação residual de óleos essenciais sobre *T. urticae* foram verificados por Moraes *et al.* (2012). Os autores avaliaram a atividade dos óleos essenciais das folhas e frutos de *Eugenia langsdorffii* O. Berg. (Myrtaceae). De acordo com as CL<sub>50</sub> estimadas para os testes de fumigação, o óleo das folhas foi cerca de 1,7 vezes mais tóxico (CL<sub>50</sub> de 1,79µL/L de ar). Por outro lado, através de contato residual, o óleo dos frutos foi o mais tóxico, com uma CL<sub>50</sub> de 12,25µL/mL.

A toxicidade fumigante do óleo essencial de *M. pulegium* foi avaliada em adultos e ovos de *T. urticae*. Após 24 h de exposição, as CL<sub>50</sub> estimadas foram de 2,57 e 2,25µL/L de ar para adultos e ovos, respectivamente. As TL<sub>50</sub> registradas para adultos foram de 22,35 e 5,81 h nas concentrações de 2,8 e 28µL/L de ar, respectivamente. Além disso, na concentração de 500mg/L o óleo essencial de *M. pulegium* promoveu alta repelência dos ácaros e causou 100% de deterrência de oviposição (Mozaffari *et al.* 2013).

Estudo sobre os efeitos dos óleos essenciais de *R. officinalis* e *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) sobre fêmeas adultas do ácaro rajado foi desenvolvido por Laborda *et al.* (2013). Através de contato, o óleo de *S. officinalis* foi mais tóxico, promovendo mortalidade acima de 70% em concentrações entre 0,10 e 0,25% após uma hora de exposição. Nos testes de imersão dos discos foliares, o óleo de *S. officinalis* também foi mais tóxico após um, quatro, e oito dias de exposição, causando significativa mortalidade dos ácaros na concentração de 0,25%. O efeito dos óleos na fecundidade das fêmeas nos testes de imersão revelou uma redução significativa do número de ovos por fêmea quando expostas a 0,15% e 0,25% dos óleos de *S. officinalis* e *R. officinalis*, respectivamente. Além disso, os ovos foram mais susceptíveis ao óleo de *S. officinalis*, o qual reduziu significativamente o número de larvas eclodidas após oito dias do tratamento.

Recentemente, Ebadollahi *et al.* (2014) estudaram a ação dos óleos essenciais das partes aéreas de *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae) e de sementes de *F. vulgare* sobre fêmeas adultas de *T. urticae*. Segundo os autores, após 24 h de exposição, as CL<sub>50</sub> obtidas revelaram que os óleos apresentaram as mesmas atividades, tanto por fumigação quanto por contato residual.

Diante da comprovada atividade tóxica e comportamental registrada para os diferentes óleos essenciais em *T. urticae*, em especial os de *M. leucadendron*, *P. aduncum* e *S. terebinthifolius*, novos estudos são necessários sobre a ação de misturas binárias de óleos visando um possível efeito sinérgico sobre esta praga.

Com base no exposto acima, a hipótese testada no presente trabalho é que a atividade de óleos essenciais sobre *P. xylostella* e *T. urticae* pode ser potencializada por meio de misturas binárias destes óleos. Este efeito foi observado por Rapper *et al.* (2013) com as misturas binárias dos óleos essenciais de *L. angustifolia* + *Cupressus sempervirens* e *L. angustifolia* + *L. cubeba*, ambas na proporção 1:1, as quais promoveram alto efeito sinérgico sobre *Candida albicans*.

Assim, o objetivo geral deste trabalho de tese foi potencializar a atividade de óleos essenciais através de misturas binárias em diferentes proporções sobre *P. xylostella* e *T. urticae*.

Os objetivos específicos desta tese foram:

1- Determinar a atividade tóxica e deterrente de alimentação dos óleos essenciais das folhas de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* em *P. xylostella*;

2- Verificar se existe efeito sinergista a partir de misturas binárias dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* através de testes de toxicidade e deterrência alimentar em *P. xylostella*;

3- Descrever a ação de constituintes químicos individuais sobre a toxicidade residual e deterrência alimentar em *P. xylostella*;

4- Investigar as toxicidades fumigante e residual de misturas binárias dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *M. leucadendron* e *S. terebinthifolius* em *T. urticae* e verificar se existe efeito sinergista;

5- Verificar os efeitos dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *M. leucadendron* e *S. terebinthifolius* e suas misturas binárias sobre a fecundidade de *T. urticae* através de fumigação e ação residual;

6- Determinar a susceptibilidade do ácaro predador, *N. californicus*, aos óleos essenciais de *P. aduncum*, *M. leucadendron* e *S. terebinthifolius* e suas misturas binárias por fumigação e efeito residual;

7- Investigar a toxicidade através de contato dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *M. leucadendron* e *S. terebinthifolius* e suas misturas binárias sobre *T. urticae* em casa de vegetação.

## Literatura Citada

- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários). 2014.** <http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>. Acesso: 12/12/2014.
- Akhtar, Y. & M.B. Isman. 2012.** Plant natural products for pest management: the magic of mixtures, p. 231-247. In I. Ishaaya, S.R. Palli & A.R. Horowitz (eds.), *Advanced Technologies for managing insect pests*. London, Springer Science & Business Media, 337p.
- Almeida, R.R.P., R.N.P. Souto, C.N. Bastos, M.H.L. Silva & J.G.S. Maia. 2009.** Chemical variation in *Piper aduncum* and biological properties of its dillapiole-rich essential oil. *Chem. Biodiv.* 6: 1427-1434.
- Andrade, L.H., J.V. Oliveira, M.O. Breda, E.J. Marques & I.M.M. Lima. 2012.** Effects of botanical insecticides on the instantaneous population growth rate of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) in cotton. *Acta Sci.* 34: 119-124.
- Araújo, M.J.C., C.A.G. Câmara, F.S. Born, M.M. Moraes & C.A. Badji. 2012.** Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its compounds against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 139-155.
- Assis, C.P.O., M.G.C. Gondim Jr., H.A.A. Siqueira & C.A.G. Câmara. 2011.** Toxicity of essential oils from plants towards *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) and *Suidasia pontifica* Oudemans (Acari: Astigmata). *J. Stored Prod. Res.* 47: 311-315.
- Attia, S., K.L. Grissa, G. Lognay, S. Heuskin, A.C. Mailleux & T. Hance. 2011.** Chemical composition and acaricidal properties of *Deverra scoparia* essential oil (Araliales: Apiaceae) and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 104: 1220-1228.
- Brugger, K.E., P.G. Cole, I.C. Newman, N. Parker, B. Scholz, P. Suvagis, G. Walker & T.G. Hammond. 2010.** Selectivity of chlorantraniliprole to parasitoid wasps. *Pest Manage. Sci.* 66: 1075-1081.
- Carvalho, A.F.U., V.M.M. Melo, A.A. Craveiro, M.I.L. Machado, M.B. Bantim & E.F. Rabelo. 2003.** Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98: 569-571.
- Cassal, V.B., L.F. Azevedo, R.P. Ferreira, D.G. Silva & R.S. Simão. 2014.** Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. *REGET/UFSM* 18: 437-445.
- Castelo Branco, M. & F.H. França. 2001.** Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae), p. 85-89. In E.F. Vilela, R.A. Zucchi & F. Cantor (eds.), *Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil*. Ribeirão Preto, Ed. Holos, 173p.

- Cavalcanti, E.S.B., S.M. Morais, M.A.A. Lima & E.W.P. Santana. 2004.** Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 99: 541-544.
- Cavalcanti, S.C.H., E.S. Niculau, A.F. Blank, C.A.G. Câmara, I.N. Araújo & P.B. Alves. 2010.** Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). Bioresour. Technol. 101: 829-832.
- Céspedes, C.L.A., J.G. Avila, J.C. Marin, M.L. Domínguez, P. Torres & E. Aranda. 2006.** Natural compounds as antioxidant and molting inhibitors can play a role as a model for search of new botanical pesticides, p. 1-27. In M. Rai & M.C. Carpinella (eds.), Naturally occurring bioactive compounds. Oxford, Elsevier, 515p.
- Chandler, D., G. Davidson & R.J. Jacobson. 2005.** Laboratory and glasshouse evaluation of entomopathogenic fungi against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), on tomato, *Lycopersicon esculentum*. Biocontrol Sci. Tech. 15: 37-54.
- Chaudhary, A., P. Sharma, G. Nadda, D. K. Tewary & B. Singh. 2011.** Chemical composition and larvicidal activities of the Himalayan cedar, *Cedrus deodara* essential oil and its fractions against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. J. Insect Sci. 11: 1-10.
- Cheng, L., G. Yu, Z. Chen & Z. Li. 2008.** Insensitive acetylcholine receptor conferring resistance of *Plutella xylostella* to nereistoxin insecticides. Agric. Sci. China 7: 847-852.
- Collier, K.F.S., G.S. Albuquerque, A.E. Eiras, J.L. Blackmer, M.C. Araújo & L.B. Monteiro. 2001.** Estímulos olfativos envolvidos na localização de presas pelo ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) em macieiras e plantas hospedeiras alternativas. Neotrop. Entomol. 30: 631-639.
- [DARP]. 2014.** Database of Arthropods Resistance to Pesticides. <http://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=536>
- Easterbrook, M.A., J.D. Fitzgerald & M.G. Solomon. 2001.** Biological control of strawberry tarsonemid mite *Phytonemus pallidus* and two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* on strawberry in the UK using species of *Neoseiulus* (*Amblyseius*) (Acari: Phytoseiidae). Exp. Appl. Acarol. 25: 25-36.
- Ebadollahi, A., J.J. Sendi, A. Aliakbar & J. Razmjou. 2014.** Chemical composition and acaricidal effects of essential oils of *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae) and *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiales: Lamiaceae) against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Psyche <http://dx.doi.org/10.1155/2014/424078>
- El-Moneim, A., M.R. Afify, F.S. Ali & T. AF. 2012.** Control of *Tetranychus urticae* Koch by extracts of three essential oils of chamomile, marjoram and *Eucalyptus*. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2: 24-30.

- EPA. Environmental Protection Agency. 2008.** Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. Pesticide Fact Sheet. United States. 77p.
- Flechtmann, C.A.H. 1983.** Dois ácaros novos para o Eucalipto, com uma lista daqueles já assinalados para esta planta. IPEF 23: 43-46.
- Franz, C. & J. Novak. 2010.** Sources of essential oils, p. 39-81. In K.H.C. Başer & G. Buchbauer (eds.), Handbook of essential oils: science, technology, and applications. London, CRC Press, 994p.
- Furlong, M.J., D.J. Wright & L.M. Dossall. 2013.** Diamondback moth ecology and management: problems, progress and prospects. Annu. Rev. Entomol. 58: 517-541.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. de Baptista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Gomes, G.A., C.M.O. Monteiro, T.O.S. Senra, V. Zeringóta, F. Calmon, R.S. Matos, E. Daemon, R.W.S. Gois, G.M.P. Santiago & M.G. Carvalho. 2012.** Chemical composition and acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on larvae of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) and larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Parasitol. Res. 111: 2423-2430.
- Gomes, G.A., C.M.O. Monteiro, L.S. Julião, R. Maturano, T.O.S. Senra, V Zeringóta, F. Calmon, R.S. Matos, E. Daemon & M.G. Carvalho. 2014.** Acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on unengorged larvae and nymphs of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). Exp. Parasitol. 137: 41-45.
- Gong, W., H. Yan, L. Gao, Y. Guo & C. Xue. 2014.** Chlorantraniliprole resistance in the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). J. Econ. Entomol. 107: 806-814.
- Gorman, K., F. Hewitt, I. Denholm & G.J. Devine. 2002.** New developments in insecticide resistance in the glasshouse whitefly (*Trialetrodes vaporariorum*) and the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the UK. Pest Manag. Sci. 58: 123-130.
- Greco, N.M., N.E. Sánchez & G.G. Liljesthröm. 2005.** *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) as a potential control agent of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): effect of pest/predator ratio on pest abundance on strawberry. Exp. Appl. Acarol. 37: 57-66.
- Hertzberg, R.C. & M.M. MacDonell. 2002.** Synergy and other ineffective mixture risk definitions. Sci. Total Envir. 288: 31-42.
- Hummelbrunner, L.A. & M.B. Isman. 2001.** Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). J. Agric. Food Chem. 49: 715-720.
- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603-608.

- Isman, M.B. & C.M. Machial. 2006.** Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization, p. 29-44. In M. Rai & M.C. Carpinella (eds.), Naturally occurring bioactive compounds. Oxford, Elsevier, 515p.
- Isman, M.B., S. Miresmailli & C.M. Machial. 2010.** Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochem. Rev.* 9: 1-8.
- Jemâa, J.M.B., S. Haouel & M.L. Khouja. 2013.** Efficacy of Eucalyptus essential oils fumigant control against *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under various space occupation conditions. *J. Stored Prod. Res.* 53: 67-71.
- Koul Olivero, O., R. Singh, B. Kaur & D. Kanda. 2013.** Comparative study on the behavioral response and acute toxicity of some essential oil compounds and their binary mixtures to larvae of *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera litura* and *Chilo partellus*. *Ind. Crop Prod.* 49: 428-436.
- Kumrungsee, N., W. Pluempanupat, O. Koul & V. Bullangpoti. 2014.** Toxicity of essential oil compounds against diamondback moth, *Plutella xylostella*, and their impact on detoxification enzyme activities. *J. Pest Sci.*, DOI 10.1007/s10340-014-0602-6.
- Kweka, E.J., M. Nyindo, F. Mosha & A.G. Silva. 2011.** Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia* Raddi against African malaria vectors. *Parasites & Vectors* 4: 129-139.
- Laborda, R., I. Manzano, M. Gamón, I. Gavidia, P. Pérez-Bermúdez & R. Boluda. 2013.** Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Ind. Crop Prod.* 48: 106-110.
- Lima, G.P.G., T.M. Souza, G.P. Freire, D.F. farias, A.P. Cunha, N.M.P.S. Ricardo, S.M. Morais & A.F.U. Carvalho. 2013a.** Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. *Parasitol. Res.* 112: 1953-1958.
- Lima, J.K.A., E.L.D. Albuquerque, A.C.C. Santos, A.P. Oliveira, A.P.A. Araújo, A.F. Blank, M.F. Arrigoni-Blank, P.B. Alves, D.A. Santos & L. Bacci. 2013b.** Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). *Ind. Crop Prod.* 47: 246-251.
- Ling, I.A., S. Sulaiman & H. Othman. 2009.** Evaluation of *Piper aduncum* Linn. essential oil (Fam:Piperaceae) against *Periplaneta americana* (L.). *Iranian J. Arthropod-Borne Dis.* 3: 1-6.
- Lingappa, S., K. Basavanagoud, K.A. Kulkarni, R.S. Patil & D.N. Kambrekar. 2004.** Threat to vegetable production by Diamondback Moth its management strategies, p. 357-396. In K.G. Mukerji (ed.), Disease management of fruit and vegetables. New York, Kluwer Academic Publishers, 563p.

- Miresmailli, S., R. Bradbury & M.B. Isman. 2006.** Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Manage. Sci.* 62: 366-371.
- Misni, N., S. Sulaiman, H. Othman & B. Omar. 2009.** Repellency of essential oil of *Piper aduncum* against *Aedes albopictus* in the laboratory. *J. Amer. Mosquito Contr. Assn.* 25: 442-447.
- Misni, N., H. Othman & S. Sulaiman. 2011.** The effect of *Piper aduncum* Linn. (Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. *Trop. Biomed.* 28: 249-258.
- Mohamed, M.I.E. & S.A.M. Abdelgaleil. 2008.** Chemical composition and insecticidal potential of essential oils from Egyptian plants against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castenum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Appl. Entomol. Zool.* 43: 599-607.
- Monnerat, R.G., S.C.M. Leal-Bertiolo, D.J. Bertioli, T.M. Butt & D. Bordat. 2004.** Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. *Hortic. Bras.* 22: 607-609.
- Monteiro, C.M.O., L.X. Araújo, G.A. Gomes, T.O.S. Senra, F. Calmos, E. Daemon, M.G. Carvalho, V.R.E.P. Bittencourt, J. Furlong & M.C.A. Prata. 2014.** Entomopathogenic nematodes associated with essential oil of *Lippia sidoides* for control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 113: 189-195.
- Moraes, G.J. 2001.** O ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) está se tornando um grave problema em diversas culturas. *Cultivar Grandes Culturas* 28. Revista On-line <http://www.grupocultivar.com.br/artigos/artigo.asp?id=634>
- Moraes, G.J. & C.H.W. Flechtmann. 2008.** Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos Editora, 308p.
- Moraes, M.M., C.A.G. Camara, M.L. Santos & C.W. Fagg. 2012.** Essential oil composition of *Eugenia langsdorffii* O. Berg.: relationships between some terpenoids and toxicity against *Tetranychus urticae*. *J. Braz. Chem. Soc.* 23: 1647-1656.
- Mozaffari, F., H. Abbasipour, A.S. Garjan, A. Saboori & M. Mahmoudvand. 2013.** Toxicity and oviposition deterrence and repellency of *Mentha pulegium* (Lamiaceae) essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae). *TEOP* 16: 575-581.
- Nascimento, A.F., C.A.G. Camara, M.M. Moraes & C.S. Ramos. 2012.** Essential oil composition and acaricidal activity of *Schinus terebinthifolius* from Atlantic Forest of Pernambuco, Brazil against *Tetranychus urticae*. *Nat. Prod. Communic.* 7: 129-132.

- Nascimento, N.C. & A.G. Fett-Neto. 2010.** Plant secondary metabolism and challenges in modifying its operation: an overview, p. 1-13. In A.G. Fett-Neto (ed.), Plant secondary metabolism engineering: methods and applications. New York, Humana Press, 340p.
- Neves, R.C.S. 2013.** Avaliação do potencial acaricida de óleos essenciais de plantas aromáticas que ocorrem no bioma de Pernambuco sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*). Dissertação de mestrado, UFRPE, Recife, 109p.
- Noosidum, A., A. Prabaripai, T. Chareonviriyaphap & A. Chandrapatya. 2008.** Excitatory-repellency properties of essential oils from *Melaleuca leucadendron* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon, and *Litsea salicifolia* (Nees) on *Aedes aegypti* (L.). J. Vector Ecol. 33: 305-312.
- Noosidum, A., T. Chareonviriyaphap & A. Chandrapatya. 2014.** Synergistic repellent and irritant effect of combined essential oils on *Aedes aegypti* (L.) mosquitoes. J. Vector Ecol. 39: 298-305.
- Oliveira, G.L., S.K. Cardoso, C.R. Lara Junior, T.M. Vieira, E.F. Guimarães, L.S. Figueiredo, E.R. Martins, D.L. Moreira & M.A.C. Kaplan. 2013.** Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). An. Acad. Bras. Cienc. 85: 1227-1234.
- Oliveira, H., A. Janssen, A. Pallini, M. Venzon, M. Fadini & V. Duarte. 2007.** A phytoseiid predator from the tropics as potential biological control agent for the spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Biol. Control 42: 105-109.
- Oliveira, J.V., J.D. Vendramim & M.L. Haddad. 1999.** Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. Rev. Agric. 74: 217-224.
- Onstad, D.W. 2014.** Major issues in insect resistance management, p. 1-23. In D.W. Onstad (ed.), Insect resistance management: Biology, economics, and prediction. London, Elsevier, 539p.
- Opit, G.P., J.R. Nechols & D.C. Margolies. 2004.** Biological control of twospotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), using *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) on ivy geranium: assessment of predator release ratios. Biol. Control 29: 445-452.
- Park, Y. & J. Lee. 2002.** Leaf cell and tissue damage of cucumber caused by twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). J. Econ. Entomol. 95: 952-957.
- Paula, H.C.B., F.M. Sombra, R.F. Cavalcante, F.O.M.S. Abreu & R.C.M. Paula. 2011.** Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil. Mat Sci Eng C-Bio S 31: 173-178.
- Pavela, R. 2012.** Efficacy of three newly developed botanical insecticides based on pongan oil against *Plutella xylostella* L. larvae. J. Biopest. 5: 62-70.

- Pillmoor, J.B., K. Wright & A.S. Terry. 1993.** Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. *Pestic. Sci.* 39: 131-140.
- Purwatiningsih, N. Heather & E. Hassan. 2012.** Efficacy of *Leptospermum petersonii* oil, on *Plutella xylostella*, and its parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. *J. Econ. Entomol.* 105: 1379-1384.
- Rafael, M.S., W.J. Hereira-Rojas, J.J. Roper, S.M. Nunomura & W.P. Tadei. 2008.** Potential control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) with *Piper aduncum* L. (Piperaceae) extracts demonstrated by chromosomal biomarkers and toxic effects on interphase nuclei. *Genet. Mol. Res.* 7: 772-781.
- Rapper, S., G. Kamatou, A. Viljoen & S. Vuuren. 2013.** The *in vitro* antimicrobial activity of *Lavandula angustifolia* essential oil in combination with other aroma0therapeutic oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/852049>
- Ribeiro, L.M.S., V. Wanderley-Teixeira, H.N. Ferreira, Á.A.C. Teixeira & H.A.A. Siqueira. 2013.** Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Putella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Bull. Entomol. Res.* 104: 88-96.
- Roh, H.S., E.G. Lim, J. Kim & C.G. Park. 2011.** Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *J. Pest Sci.* 84: 495-501.
- Rondelli, V.M., D. Pratisoli, H.J.G. Santos Junior, H.B. Zago, L.C. Machado, H.S. Rodrigues & W.R. Valbon. 2013.** Insecticide activity of *Beauveria bassiana* and castor bean oil against *Plutella xylostella* under greenhouse. *Biosci. J.* 29: 1187-1193.
- Sarfraz, M. & B.A. Keddie. 2005.** Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Plutellidae). *J. Appl. Entomol.* 129: 149-157.
- Sarfraz, M., L.M. Dossall & B.A. Keddie. 2006.** Diamondback moth-host plant interactions: implications for pest management. *Crop Prot.* 25: 625-639.
- Sato, M.E., M.Z. da Silva, M.F.S. Filho, A.L. Matioli & A. Raga. 2007.** Management of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in strawberry fields with *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) and acaricides. *Exp. Appl. Acarol.* 42: 107-120.
- Silva, A.G., D.L. Almeida, S.N. Ronchi, A.C. Bento, R. Scherer, A.C. Ramos & Z.M.A. Cruz. 2010.** The essential oil of brazilian pepper, *Schinus terebinthifolius* Raddi in larval control of *Stegomyia aegypti* (Linnaeus, 1762). *Parasite Vector* 3: 79-86.
- Silva, D.T., L.L. Silva, L.P.Amaral, C.G. Pinheiro, M.M. Pires, B. Schindler, Q.I. Garlet, S.C. Benovit, B. Baldisserotto, S.J. Longhi, C.B. Kotzian & B.M. Heinzmann. 2014.** Larvicidal activity of brazilian plant essential oils against Coenagrionidae larvae. *J. Econ. Entomol.* 107: 1713-1720.

- Silva, M.A., J.R.P. Parra & L.G. Chiavegato. 1985.** Biologia comparada de *Tetranychus urticae* em cultivares de algodoeiro. *Pesq. Agropec. Bras.* 20: 741-748.
- Silva, I., R.M. Pereira, S.S. Moreira, M.C. Picanço, A.F. Blank, R.N.S. Campos, S.O. Campos & L. Bacci. 2011.** Óleo essencial de patchouli no controle da traça-das-crucíferas. *Hortic. Bras.* 29: 870-875.
- Souto, R.N.P., A.Y. Harada, E.H.A. Andrade & J.G.S. Maia. 2012.** Insecticidal activity of *Piper* essential oils from the amazona against the fire ant *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotrop. Entomol.* 41: 510-517.
- Stumpf, N. & R. Nauen. 2001.** Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 94: 1577-1583.
- Sundufu, A.J., L. Guangwen & H. Shoushan. 2006.** Electrophysiology and behavioural feedback of Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Plutellidae) to volatiles from a non-host plant *Lantana camara* L. (Verbenaceae var. *aculeate*). *Jeobp* 9: 1-16.
- Tamai, M.A., S.B. Alves, J.E.M. Almeida & M. Faion. 2002.** Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Arq. Inst. Biol.* 69: 77-84.
- Tewary, D.K., A. Bhardwaj & A. Shanker. 2005.** Pesticidal activities in five medicinal plants collected from mid hills of western Himalayas. *Ind. Crop Prod.* 22: 241-247.
- Thuler, R.T., S.A. Bortoli & J.C. Barbosa. 2007.** Eficácia de inseticidas químicos e produtos vegetais visando ao controle de *Plutella xylostella*. *Científica* 35: 166-174.
- Trocza, B., C.T. Zimmer, J. Elias, C. Schorn, C. Bass, T.G.E. Davies, L.M. Field, M.S. Williamson, R. Slater & R. Nauen. 2012.** Resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) is associated with a mutation in the membrane-spanning domain of the ryanodine receptor. *Insect Biochem. Molec. Biol.* 42: 873-880.
- Ulmer, B., C. Gillott, D. Woods & M. Erlandson. 2002.** Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. *Crop Prot.* 21: 327-331.
- Vassiliou, V.A. & P. Kitsis. 2013.** Acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) populations from Cyprus. *J. Econ. Entomol.* 106: 1848-1854.
- Verkerk, R.H.J. & D.J. Wright. 1996.** Multitrophic interactions and management of the diamondback moth: a review. *Bull. Entomol. Res.* 86: 205-216.
- Wang, X. & Y. Wu. 2012.** High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field populations of *Plutella xylostella*. *J. Econ. Entomol.* 105: 1019-1023.

- Wink, M. 2006.** Importance of plant secondary metabolites for protection against insects and microbial infections, p. 251-268. In M. Rai & M.C. Carpinella (eds.), Naturally occurring bioactive compounds. Oxford, Elsevier, 515p.
- Yi, C., M. Kwon, T.T. Hieu, Y. Jang & Y. Ahn. 2007.** Fumigant toxicity of plant essential oils to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) and *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae). J. Asia-Pacific Entomol. 10: 157-163.
- Zago, H.B., H.A.A. Siqueira, E.J.G. Pereira, M.C. Picanço & R. Barros. 2013.** Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. Pest Manage. Sci. 70: 488-495.
- Zhang, M., B. Ling, S. Chen, G. Liang & X. Pang. 2004.** Repellent and oviposition deterrent activities of the essential oil from *Mikania micranta* and its compounds on *Plutella xylostella*. Entomol Sin 11: 37-45.

## CAPÍTULO 2

### ATIVIDADE SINERGISTA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E AÇÃO INSETICIDA DE CONSTITUINTES QUÍMICOS INDIVIDUAIS EM *Plutella xylostella* (LINNAEUS) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)<sup>1</sup>

MÁRIO J.C. ARAÚJO<sup>2</sup>, CLÁUDIO A.G. CÂMARA<sup>3</sup> E CLÉCIO S. RAMOS<sup>3</sup>

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

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

---

<sup>1</sup>Araújo, M.J.C. de, C.A.G. da Câmara & C.S. Ramos. Atividade sinergista de óleos essenciais e ação inseticida de constituintes químicos individuais em *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae). A ser submetido.

RESUMO – Com o objetivo de determinar a atividade inseticida dos óleos essenciais de *Piper aduncum* (PA), *Lippia sidoides* (LS) e *Schinus terebinthifolius* (ST), de seus constituintes químicos individuais, e ainda verificar se existe sinergismo entre os diferentes óleos essenciais, avaliou-se a ação destas substâncias em *Plutella xylostella*. O inseticida químico sintético Premio<sup>®</sup>, usado como controle positivo, foi o mais tóxico por efeito residual e o mais deterrente de alimentação ( $CL_{50} = 0,001\mu\text{L/mL}$  e  $CD_{50} = 0,0026\mu\text{L/mL}$ ). Entre os óleos essenciais, *P. xylostella* foi mais susceptível ao óleo de *P. aduncum* por ação residual bem como por deterrência alimentar ( $CL_{50} = 0,31\mu\text{L/mL}$  e  $CD_{50} = 1,08\mu\text{L/mL}$ ). Quando comparada a ação dos constituintes químicos individuais, dilapiol foi o mais tóxico por efeito residual ( $CL_{50} = 1,01\mu\text{L/mL}$ ), enquanto carvacrol revelou maior atividade deterrente de alimentação ( $CD_{50} = 0,075\mu\text{L/mL}$ ). A avaliação das misturas binárias dos óleos essenciais indicou que as mais tóxicas foram PA+LS (50-50%) e PA+LS (25-75%), com  $CL_{50}$  de 3,93 e 4,48 $\mu\text{L/mL}$ , respectivamente. Ao promover deterrência alimentar, a mistura PA+LS (25-75%) mostrou-se a mais ativa, com  $CD_{50}$  de 3,23 $\mu\text{L/mL}$ . Os índices de efeito fracional obtidos indicaram que, por ação residual, apenas a mistura LS+ST (75-25%) apresentou sinergismo, enquanto para deterrência alimentar, nenhuma mistura foi considerada sinergista. Estes resultados sugerem que o óleo essencial de *P. aduncum* apresenta potencial para uso no controle de *P. xylostella* e que a mistura binária LS+ST (75-25%) é promissora para uso em formulações visando o manejo integrado desta praga.

PALAVRAS-CHAVE: Brassicaceae, deterrência alimentar, inseticida natural, traça-das-crucíferas, toxicidade

SYNERGIST ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AND INSECTICIDE ACTION OF  
INDIVIDUAL CHEMICAL CONSTITUENTS IN *Plutella xylostella* (LINNAEUS)  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)

ABSTRACT – In order to determine the insecticidal activity of essential oils of *Piper aduncum* (PA), *Lippia sidoides* (LS) and *Schinus terebinthifolius* (ST), their individual chemical constituents and further check whether there is synergy between the different essential oils, evaluated the action of these substances in *Plutella xylostella*. The synthetic chemical insecticide Premio<sup>®</sup>, used as positive control, was the most toxic residual effect and feeding deterrence ( $LC_{50}=0.001\mu\text{L/mL}$  and  $DC_{50}=0.0026\mu\text{L/mL}$ ). Among the essential oils, *P. xylostella* was more susceptible to *P. aduncum* oil through residual action as well as for feeding deterrence ( $LC_{50}=0.31\mu\text{L/mL}$  and  $DC_{50}=1.08\mu\text{L/mL}$ ). Compared the action of individual chemical constituents, dilapiol was the most toxic residual effect ( $LC_{50}=1.01\mu\text{L/mL}$ ), while carvacrol showed greater feeding deterrence ( $DC_{50}=0.075\mu\text{L/mL}$ ). The evaluation of binary mixtures of essential oils showed that PA+LS (50-50%) and PA+LS (25-75%) were the most toxic, with  $LC_{50}$  of 3.93 and  $4.48\mu\text{L/mL}$ , respectively. Through feeding deterrence, the mixture PA+LS (25-75%) proved to be the most active, with  $DC_{50}$  of  $3.23\mu\text{L/mL}$ . The fractional effect index obtained indicated that by residual action, only the mixture LS+ST (75-25%) showed synergism, while by feeding deterrence, no mixture was considered synergistic. These results suggest that the *P. aduncum* essential oil has potential for use in the control of *P. xylostella* and that the binary mixture LS+ST (75-25%) is a good candidate for use in formulations aimed at the integrated management of this pest.

KEY WORDS: Brassicaceae, feeding deterrence, natural insecticide, diamondback moth, toxicity

## Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae), é considerada uma importante praga das brássicas no Brasil e no mundo. Os prejuízos promovidos pela espécie ocorrem, principalmente, devido às características como elevada taxa de fecundidade e multivoltinismo, causando sérios problemas aos agricultores (Ulmer *et al.* 2002). O consumo do tecido foliar pelas larvas, causa depreciação do produto, atraso no desenvolvimento das plantas e podendo até mesmo provocar a sua morte (Monnerat *et al.* 2004). Em campo altas infestações podem promover perdas acima de 90% (Verkerk & Wright 1996).

Na tentativa de reduzir esses prejuízos, inseticidas químicos sintéticos vêm sendo utilizados como principal forma de controle (Cheng *et al.* 2008, Furlong *et al.* 2013), sendo aqueles pertencentes aos grupos dos piretróides e organofosforados os mais utilizados. Um novo inseticida tendo como princípio ativo o Clorantraniliprole, pertencente ao grupo químico das diamidas antranílicas, também vêm sendo utilizado para o controle de *P. xylostella*, apresentando características como seletividade e baixa toxicidade aos mamíferos (EPA 2008, Brugger *et al.* 2010).

Partindo-se do princípio que o uso indiscriminado destes produtos químicos tem levado à seleção de populações resistentes da praga em várias regiões do mundo (Castelo Branco & França 2001), a traça-das-crucíferas é uma das poucas espécies de insetos que desenvolveu resistência a todas as principais classes de inseticidas, inclusive a formulações contendo *Bacillus thuringiensis* Berliner (Zago *et al.* 2014).

No ano de 2012, o banco de dados, Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD) registrou *P. xylostella* resistente a 82 diferentes compostos (Furlong *et al.* 2013). Até mesmo casos de resistência de populações de *P. xylostella* ao princípio ativo Clorantraniliprole já vêm

sendo reportados por diferentes autores, inclusive no Estado de Pernambuco (Trocza *et al.* 2012, Wang & Wu 2012, Ribeiro *et al.* 2013, Gong *et al.* 2014).

Entre os problemas ocasionados pelo uso indiscriminado destes produtos sintéticos ainda podem ser citados os danos ao meio ambiente, com a contaminação do alimento, toxicidade aos mamíferos e persistência no solo (Gonçalves *et al.* 2001). Além disso, o uso dos produtos químicos para o controle de *P. xylostella* pode atingir altos custos. Os gastos anuais em brássicas são estimados em US\$ 1,4 bilhões, podendo chegar a US\$ 2,7 bilhões se forem consideradas as perdas em campo (Furlong *et al.* 2013). Desta forma é necessário a busca por novas técnicas e métodos com base nos princípios do manejo ecológico de pragas, através da utilização de produtos seletivos aos inimigos naturais e menos agressivos ao meio ambiente.

Nessa óptica, o uso de produtos naturais pode ser uma alternativa aos químicos sintéticos mencionados anteriormente. Entre estes produtos naturais, os de origem botânica extraídos de diferentes partes do vegetal têm sido bastante investigados nas últimas décadas (Isman 2000, Isman 2006). A principal forma de uso desses inseticidas botânicos é através de pós, extratos, óleos fixos e óleos essenciais, os quais têm propriedades inseticidas comprovadas.

Dentre esses produtos, vários estudos podem ser encontrados para o controle de diferentes artrópodes, com o uso de óleos essenciais. Os componentes químicos desses óleos podem atuar por fumigação, contato, efeito residual, ou ainda alterações no comportamento da praga, causando repelência, deterrência de oviposição e alimentar (Setiawati *et al.* 2011, Jemâa *et al.* 2013, Olivero-Verbel *et al.* 2013, Sousa *et al.* 2013, Koul *et al.* 2013, Kumrungsee *et al.* 2014).

Além disso, misturas de diferentes óleos essenciais podem potencializar sua atividade. Uma vez que as plantas utilizam um conjunto de compostos para sua defesa, segundo Akhtar & Isman (2012), existem evidências de que os constituintes presentes em menores quantidades podem atuar como sinergistas, aumentando o efeito de constituintes majoritários por meio de diversos

mecanismos. Tal fato pode ter importante papel na defesa de plantas contra herbívoros. No entanto, os registros da ação de misturas de diferentes óleos essenciais para o controle de pragas agrícolas são escassos e poucos estudos sobre a atividade de misturas de constituintes químicos com este objetivo são relatados na literatura (Koul *et al.* 2013, Kumrungsee *et al.* 2014).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos letais e deterrentes de alimentação dos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* Linnaeus (Piperaceae), *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e seus constituintes químicos individuais em *P. xylostella*, além de determinar o nível de sinergismo entre misturas binárias desses óleos essenciais em diferentes proporções.

### **Material e Métodos**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Inseticidas Naturais do Departamento de Agronomia e os óleos essenciais obtidos no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química, ambos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), sob condições de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $65 \pm 5\%$  e 12 h de fotofase.

**Material Vegetal e Óleos Essenciais.** As espécies vegetais selecionadas para o estudo foram *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), conhecidas popularmente como pimenta de macaco, alecrim-pimenta e aroeira, respectivamente. As coletas foram realizadas no Campus da UFRPE-Pernambuco (*P. aduncum* e *S. terebinthifolius*), e Poço Redondo-Sergipe (*L. sidoides*) e as exsiccatas depositadas com os números HST 18177; 8226 e 42544 para *Piper*, *Lippia* e *Schinus*, respectivamente.

Para a extração dos óleos essenciais, folhas frescas de cada espécie foram trituradas separadamente com água destilada. O óleo essencial isolado por meio da técnica de hidrodestilação por um período de 2h em um aparelho tipo Clevenger modificado. Após a

obtenção dos óleos essenciais, estes foram separados da água por diferença de densidade e secos com sulfato de sódio anidro. Cada óleo essencial foi armazenado em um recipiente de vidro vedado e mantido sob refrigeração (+5° C) até sua utilização nos experimentos.

**Constituintes Químicos.** Os constituintes químicos utilizados neste estudo foram selecionados com base na composição química dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius*, registrada por Araújo *et al.* (2012), Cavalcanti *et al.* (2010) e Silva *et al.* (2010), respectivamente (Tabela 1). Os constituintes químicos investigados quanto a ação inseticida foram: dilapiol,  $\beta$ -Cariofileno, Terpinolene, Timol, Carvacrol, Aromadendreno,  $\alpha$ -Humuleno, Óxido de cariofileno,  $\beta$ -Pinoeno, D-Limoneno e  $\alpha$ -Pinoeno. Todas as substâncias químicas foram compradas da Sigma-Aldrich – Brazil.

**Criação de *Plutella xylostella*.** A técnica de criação de *P. xylostella* foi realizada de acordo com Torres *et al.* (2006). Os insetos utilizados foram provenientes de uma população susceptível mantida no Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE. Para a manutenção da criação, lagartas recém-eclodidas foram confinadas em recipientes plásticos com dimensões de 15 x 10 x 15 cm contendo seções foliares de couve orgânica.

As folhas foram substituídas diariamente até que todos os insetos atingissem a fase de pupa, as quais foram coletadas diariamente e colocadas em tubos de vidro de fundo chato, medindo 1 cm de diâmetro, fechados com filme plástico transparente PVC com pequenos orifícios para a circulação do ar. Antes da emergência, as pupas foram transferidas para gaiolas plásticas transparentes circulares com uma abertura vedada lateralmente com “voil” para possibilitar a circulação do ar, evitar a ação de inimigos naturais e permitir a emergência dos adultos.

Na parte superior da gaiola foi mantido um orifício contendo um pedaço de algodão embebido com uma solução de mel a 10%. No interior das gaiolas, foram colocados discos de folhas de couve com 8,0 cm de diâmetro sobre papel-filtro umedecido para permitir a oviposição.

Os discos foliares foram substituídos diariamente e aqueles com as posturas acondicionados nos recipientes plásticos e mantidos até a eclosão das larvas.

**Bioensaios de Efeito Residual sobre *Plutella xylostella*.** A técnica para determinar o efeito residual foi adaptada de Torres *et al.* (2006), na qual discos de folha de couve de 5,0 cm de diâmetro foram imersos nas soluções preparadas com óleo essencial puro, suas misturas ou constituintes químicos individuais diluídos em metanol por 30 segundos e postos para secar sobre papel toalha em temperatura ambiente. Os discos controle foram imersos apenas em metanol. Após a secagem, os discos foram transferidos para placas-de-petri contendo papel-filtro levemente umedecido com água destilada. Para cada placa-de-petri foram transferidas cinco larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella*. A mortalidade das larvas foi registrada após um período de 48 h de exposição. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 12 repetições totalizando 60 larvas por tratamento.

Os dados de mortalidade foram analisados pelo modelo de Probit através do Software POLO-PC para a determinação dos valores das  $CL_{50}$ , com intervalos de confiança a 95% (LeOra 1987). O método de Robertson *et al.* (2007) foi usada para o cálculo das razões de toxicidade com intervalos de confiança a 95%. Os resultados obtidos foram comparados com o controle positivo, realizado com o inseticida químico sintético Premio<sup>®</sup> (concentrado solúvel a 20%, DuPont Brasil Ltda), pertencente a nova classe das diamidas antranílicas e que apresenta clorantraniliprole como ingrediente ativo.

A escolha do inseticida químico sintético baseado em clorantraniliprole foi realizada porque este é um produto registrado recentemente para o controle de Lepidoptera e que vem sendo amplamente utilizado pelos agricultores para o controle de *P. xylostella*. Inseticida sintético como deltametrina, pertencente ao grupo químico dos piretróides, não foi utilizado como controle positivo no presente estudo porque, embora recomendado pelo MAPA (AGROFIT 2015) para o

controle de *P. xylostella*, resistência desta espécie a este produto já está comprovada desde 1997 (Castelo Branco *et al.* 1997), assim, com o passar dos anos, este grupo de inseticidas não apresenta eficiência para o controle desta praga (Castelo Branco & Gatehouse 1997, Castelo Branco *et al.* 2003, Kwon *et al.* 2004, Kahaliq *et al.* 2007, Praça *et al.* 2007, Dadang & Prijono 2009).

**Bioensaios de Deterrência Alimentar em *Plutella xylostella*.** O método para avaliar a deterrência alimentar foi adaptado de Akhtar *et al.* (2012). Larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella* foram transferidas para placas-de-petri e privadas de alimento por 3-4 h antes dos experimentos. Discos de folhas de couve de 2,0 cm de diâmetro foram imersos nas soluções preparadas com óleo essencial puro, suas misturas ou constituintes químicos individuais diluídos em metanol por 30 segundos e postos para secar sobre papel toalha em temperatura ambiente.

Os discos controle foram imersos apenas em metanol. Após a secagem, um disco tratado e um controle foram colocados separados a uma distância de 0,7 cm em cada placa-de-petri. Uma larva foi colocada no centro de cada placa-de-petri, entre os dois discos de folha onde permaneceu se alimentando por 24 h. Foram realizadas 24 repetições por tratamento, sendo cada repetição uma placa-de-petri contendo uma larva.

Após 24 h de exposição, as larvas foram removidas e as áreas foliares consumidas nos discos controle e tratamento avaliadas. Esta avaliação foi realizada através do programa Scion Image Software. O índice de deterrência alimentar (IDA) foi calculado segundo a fórmula:  $IDA = 100\{(C - T) / (C + T)\}$ , onde C e T são as áreas consumidas nos discos controle e tratados, respectivamente.

Testes preliminares foram realizados para todos os óleos essenciais, suas misturas binárias e constituintes químicos na concentração de 50 µL/mL e os IDA submetidos a análise de variância

com as médias comparadas através do teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) no programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

Após os testes preliminares, foram calculados os IDA de cada tratamento e as concentrações causando 50% de deterrência alimentar ( $CD_{50}$ ) calculadas através de análise de regressão no programa estatístico SAS (SAS Institute 2002). Os resultados obtidos foram comparados com o controle positivo, realizado com o inseticida químico sintético Premio<sup>®</sup>, pertencente ao grupo químico das diamidas antranílicas e que apresenta clorantraniliprole como ingrediente ativo.

**Obtenção dos Índices de Efeito Fracional dos Óleos Essenciais sobre *Plutella xylostella*.** Para a identificação de uma possível ação sinergista, as seguintes misturas binárias foram preparadas, com base nos óleos essenciais de *P. aduncum* (PA), *L. sidoides* (LS) e *S. terebinthifolius* (ST): PA + LS e LS + ST, ambas nas proporções de 50-50%, 25-75% e 75-25%. Cada mistura binária foi avaliada por meio das técnicas para determinação de deterrência alimentar e efeito residual. Após a obtenção das  $CL_{50}$  e  $CD_{50}$  de cada mistura, seus resultados foram comparados com aqueles obtidos para os óleos essenciais puros. Os índices de efeito fracional (IEF) foram calculados pela da fórmula (Houghton 2009):

IEF = Efeito Fracional<sub>a</sub> + Efeito Fracional<sub>b</sub>, onde:

$$\text{Efeito Fracional}_a = CL_{50 \text{ mistura}} / CL_{50 a}$$

$$\text{Efeito Fracional}_b = CL_{50 \text{ mistura}} / CL_{50 b}$$

Os resultados foram interpretados como sinergista ( $IEF < 0,5$ ), aditivo ( $0,5 \leq IEF \leq 1,0$ ), indiferente ( $1,0 < IEF \leq 4,0$ ) ou antagonista ( $IEF > 4,0$ ) de acordo com Bassolé *et al.* (2010).

## Resultados e Discussão

**Efeito Residual dos Óleos Essenciais (*Piper aduncum*, *Lippia sidoides* e *Schinus terebinthifolius*), Misturas Binárias e Componentes Químicos Individuais sobre *Plutella***

*xylostella*. As  $CL_{50}$  estimadas por meio de efeito residual dos óleos essenciais, misturas binárias e constituintes químicos individuais sobre *P. xylostella* estão especificadas nas Tabelas 2 e 3. De acordo com os resultados obtidos, a susceptibilidade da praga aos produtos testados, variou de acordo com o óleo, o tipo e proporção de óleos que constituíram as misturas binárias e a classe química dos constituintes químicos investigados.

**Óleos Essenciais.** Todos os óleos essenciais avaliados apresentaram toxicidade sobre as larvas. O óleo de *P. aduncum* ( $CL_{50} = 0,31\mu\text{L/mL}$ ) revelou-se o mais tóxico, sendo cerca de 90 e 269 vezes mais ativo do que os óleos de *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* ( $CL_{50} = 27,94$  e  $83,42\mu\text{L/mL}$ , respectivamente) (Tabela 2).

Quando comparados os resultados obtidos para os óleos essenciais e o produto formulado Premio<sup>®</sup>, que tem como princípio ativo clorantraniliprole, este foi mais tóxico, com uma  $CL_{50}$  estimada de  $0,001\mu\text{L/mL}$ , sendo cerca de 200 vezes mais tóxico do que o óleo de *P. aduncum* (Tabela 2).

Apesar da maior eficácia do controle positivo sobre *P. xylostella*, os resultados obtidos, principalmente para o óleo de *P. aduncum* são significativos, pois a complexa composição química de um óleo essencial, o leva a atuar por diferentes modos de ação, reduzindo os riscos de seleção de populações que sejam resistentes a estes óleos.

O mesmo não se pode dizer para o controle positivo, Premio<sup>®</sup>, pois tem sido relatados alguns casos de resistência de *P. xylostella* a clorantraniliprole em diferentes locais do mundo (Troczka *et al.* 2012, Wang & Wu 2012, Gong *et al.* 2014), inclusive no Brasil e no Estado de Pernambuco (Ribeiro *et al.* 2013), destacando a importância do uso dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* no controle de *P. xylostella*. Esse é um resultado importante que justifica um estudo com esses óleos visando otimizar a ação desses óleos essenciais para o controle desta praga.

De acordo com levantamento bibliográfico, nenhum registro foi encontrado sobre a toxicidade dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* sobre *P. xylostella*. No entanto, vários óleos obtidos de diferentes espécies botânicas têm sido objeto de estudo, nos últimos anos. Recentemente, Chaudhary *et al.* (2011) estudaram a ação residual do óleo essencial do caule de *Cedrus deodara* (Roxb. Ex D. Don) (Pinales: Pinaceae) em larvas de segundo ínstar de *P. xylostella*. A CL<sub>50</sub> (424,82mg/mL) estimada pelos autores indica que esse óleo essencial foi 1.335,66; 17,95 e 6,76 vezes menos tóxico em comparação aos resultados obtidos no presente estudo para os óleos de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius*, respectivamente.

A toxicidade residual promovida pelo óleo essencial de *Leptospermum petersonii* (FM. Bailey) (Myrtaceae) foi pesquisada por Purwatiningsih *et al.* (2012). A CL<sub>50</sub> estimada para o óleo em larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella* foi de 2,93% sete dias após o tratamento. Este resultado indica que este óleo foi 9,45 vezes menos tóxico do que o óleo de *P. aduncum* e apresentou a mesma toxicidade observada para o óleo de *L. sidoides* no presente estudo. No entanto, o óleo de *L. petersonii* foi 2,85 vezes mais tóxico do que o óleo de *S. terebinthifolius*. Além disso, a ação do óleo essencial de *L. petersonii* foi verificada em condições de casa de vegetação nas concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0%. Após sete dias de exposição das larvas, o óleo causou significativo efeito na mortalidade.

Tewary *et al.* (2005) também verificaram a toxicidade residual de diferentes óleos essenciais em larvas de segundo ínstar de *P. xylostella*. De acordo com os autores, após 48h de exposição, os óleos do rizoma de *Acorus calamus* L. (Araceae), das folhas de *Zanthoxylum armatum* L. (Rutaceae) e da planta inteira de *Valeriana jatamansi* L. (Valerianaceae), todos na concentração de 10.000ppm, promoveram mortalidades de apenas 30; 42 e 25% das larvas, respectivamente. Quando comparados os resultados observados pelos autores para os três óleos essenciais com aqueles obtidos no presente estudo, o óleo essencial de *P. aduncum* revelou-se

mais tóxico, matando 50% das larvas com uma concentração de 0,31µL/mL (318,06ppm). Por outro lado, os óleos de *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* necessitaram de 23.665 e 62.815ppm, respectivamente, para matar 50% da população.

Além destes registros sobre ação residual, pesquisa sobre a toxicidade fumigante de 66 óleos essenciais foi realizada por Yi *et al.* (2007) em larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella*. Após 24h os óleos de *Mentha pulegium* L. (Lamiaceae) e *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) (CL<sub>50</sub> = 10,77 e 15,14mg/disco de folha de 4,25 cm de diâmetro, respectivamente) revelaram os melhores resultados.

Toxicidade por aplicação tópica do óleo de *Pogostemon* sp. (Lamiaceae) foi verificada por Silva *et al.* (2011) em larvas de *P. xylostella*. Após três dias de exposição a uma concentração de 10mg/g de inseto, foi registrado o efeito do óleo essencial sobre a praga, com taxa de mortalidade acima de 60%. O óleo de mamona, *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), extraído por prensagem a frio, foi testado sobre larvas de quarto ínstar de *P. xylostella* em condições de casa de vegetação a uma concentração de 2%. Este óleo promoveu uma eficiência de controle de apenas 16,9; 25,4 e 29,0% aos 3, 5 e 8 dias após as pulverizações, no entanto, a sobrevivência das larvas foi reduzida para 55% (Rondelli *et al.* 2013). Nos testes realizados em laboratório no presente estudo, os óleos de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* após 48 h de exposição das larvas nos testes de efeito residual, mataram 50% das larvas em concentrações de 0,031; 2,79 e 8,34%, respectivamente.

Comparando às toxicidades obtidas para os óleos de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* sobre *P. xylostella* com os resultados reportados na literatura para óleos essenciais isolados de outras espécies vegetais, observa-se que os óleos das espécies aqui investigadas foram mais eficientes no controle de *P. xylostella*. Esses resultados podem ser justificados pelas

diferenças nas composições químicas dos óleos, bem como pelos diferentes métodos empregados na avaliação da toxicidade sobre *P. xylostella*.

A complexa composição química dos óleos essenciais, com constituintes presentes em diferentes proporções, permite que constituintes individuais sejam investigados quanto à sua atividade inseticida. Assim, novas substâncias bioativas podem ser selecionadas e usadas como líder em formulações visando ao controle de insetos-praga. Com este intuito, a toxicidade de onze constituintes químicos individuais identificados nos óleos essenciais estudados também foi verificada sobre larvas de *P. xylostella*.

**Constituintes Químicos Individuais.** Analisando a atividade dos constituintes químicos individuais obtida no presente estudo, as  $CL_{50}$  estimadas revelaram que a toxicidade residual variou de acordo com a classe química de cada um dos constituintes químicos (Tabela 3). Ou seja, os fenilpropanóides foram mais tóxicos do que os terpenos. De fato, dilapiol ( $CL_{50} = 1,01\mu\text{L/mL}$ ), componente principal do óleo de *P. aduncum* (79,00%) foi o mais tóxico entre todos os componentes químicos dos óleos investigados, seguido do carvacrol (46,09%) ( $CL_{50} = 6,03\mu\text{L/mL}$ ) e do timol (7,25%) ( $CL_{50} = 13,60\mu\text{L/mL}$ ), principais componentes do óleo de *L. sidoides*. Entre os terpenos,  $\beta$ -Cariofileno ( $CL_{50} = 40,46\mu\text{L/mL}$ ) apresentou atividade intermediária enquanto aromadendreno,  $\alpha$ -humuleno e óxido de cariofileno foram os menos tóxicos e apresentaram o mesmo nível de toxicidade entre si (Tabela 3).

Entre os constituintes químicos identificados no óleo essencial de *P. aduncum* (Tabela 1), e testados contra *P. xylostella*, o constituinte majoritário, dilapiol (79,0%), foi o mais tóxico, no entanto, sua atividade foi 3,26 vezes menor em comparação ao óleo de *Piper*. Outros componentes presentes em percentuais menores no óleo, como terpinoleno (0,1%),  $\beta$ -cariofileno (0,6%) e  $\alpha$ -humuleno (4,5%), também apresentaram toxicidade inferior a do óleo de *Piper* (Tabelas 2 e 3). Esse resultado indica que outros componentes que constituem o óleo de *Piper* e

que não foram testados sobre *P. xylostella* contribuem para a atividade observada para este óleo, independentemente da sua porcentagem.

Testes com os constituintes químicos selecionados a partir do óleo de *Lippia* (Tabela 1) revelaram que apenas o sesquiterpeno  $\beta$ -cariofileno apresentou toxicidade inferior a este óleo, enquanto que o monoterpeno, carvacrol foi cerca de 5 vezes mais potente do que o óleo, seguido de terpinolene (0,06%), que foi cerca de 3 vezes mais tóxico do que o óleo de *Lippia* (Tabelas 2 e 3). Esse resultado sugere que esses compostos exercem importante papel na toxicidade observada para o óleo de *Lippia*.

Quando comparadas as atividades dos sesquiterpenos identificados no óleo essencial de *S. terebinthifolius* (Tabela 1), apesar de suas toxicidades relativas terem sido inferior ao fenilpropanóide aqui testado, esses constituintes apresentaram toxicidade maior do que o óleo de *Schinus* podendo ser considerados como alguns dos princípios ativos desse óleo (Tabelas 2 e 3).

As  $CL_{50}$  por efeito residual dos constituintes  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno e limoneno no presente estudo não foram calculadas por estes constituintes serem pouco tóxicos as larvas de *P. xylostella*, provocando mortalidade de 13,30; 32,00 e 53,00% nas concentrações de 500; 600 e 1000 $\mu$ L/mL, respectivamente. A reduzida toxicidade observada para esses monoterpenos, também foi detectada sobre larvas de outra espécie de Lepidoptera, *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera: Noctuidae). Testes de toxicidade de contato destes constituintes indicaram percentuais de mortalidade de 0,0 e 2,5 para  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno, respectivamente, após 48h de exposição das larvas em uma concentração de 250 $\mu$ g/cm<sup>2</sup> (Sousa *et al.* 2013).

Comparando o efeito dos constituintes químicos com aquele obtido para o inseticida Premio<sup>®</sup>, usado como controle positivo, as  $CL_{50}$  estimadas revelaram que o inseticida foi mais tóxico do que todos os constituintes, sendo cerca de 679 vezes mais tóxico do que o dilapiol (Tabela 3).

Nenhum estudo foi realizado até o momento com os compostos selecionados a partir dos óleos de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* quanto à toxicidade residual sobre larvas de *P. xylostella*. O efeito inseticida de outros constituintes químicos, testados individualmente sobre larvas de *P. xylostella* também vem sendo avaliado por vários pesquisadores. Kumrungsee *et al.* (2014) avaliaram a ação tópica dos constituintes químicos timol, 1,8-cineol, linalool e pulegone após 24h de tratamento em larvas de terceiro ínstar. Os compostos mais ativos foram timol e 1,8-cineol, com CL<sub>50</sub> de 0,22 e 0,41mg/larva, respectivamente.

As toxicidades por aplicação tópica dos constituintes timol e carvacrol foram verificadas por Koul *et al.* (2013) em três espécies de Lepidoptera, os Noctuidae *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Spodoptera litura* (Fabricius), além de *Chilo partellus* Swinhoe (Crambidae). Os autores relataram que, embora todos os constituintes tenham apresentado toxicidade, timol foi o mais tóxico para as três espécies de insetos.

**Misturas Binárias.** Com o intuito de verificar se o efeito dos óleos essenciais pode ser potencializado, novos testes foram realizados a partir de misturas binárias dos óleos estudados em diferentes proporções. Relatos sobre ação sinergista de óleos essenciais encontrados na literatura indicam que pesquisas dessa natureza vêm sendo realizadas com sucesso visando o controle de agentes microbianos (Rapper *et al.* 2013).

No entanto, investigações para potencializar a ação de óleos através de misturas para o controle de pragas agrícolas são escassas (Pavela 2012). Dessa forma, novos testes de toxicidade sobre larvas de *P. xylostella* foram realizados com misturas binárias dos óleos com maior toxicidade. As CL<sub>50</sub> estimadas para as misturas dos óleos de *Piper* + *Lippia* e *Lippia* + *Schinus*, nas proporções de 50-50; 25-75 e 75-25 por efeito residual são apresentadas na Tabela 2. As toxicidades das misturas binárias dos óleos selecionados variaram de acordo com a proporção de

cada óleo dentro da mistura e, conseqüentemente, podem ser explicadas devido as diferentes combinações dos constituintes químicos presentes nos óleos.

Quando comparados os efeitos letais promovidos pelos óleos essenciais individuais e suas misturas binárias, os resultados das  $CL_{50}$  estimadas indicam que o óleo de *P. aduncum* foi mais tóxico por efeito residual do que todas as misturas, sendo cerca de 12 e 14 vezes mais tóxico do que as misturas PA + LS (50-50) e PA + LS (25-75), respectivamente (Tabela 2). Com base no cálculo do índice fracional para essas misturas, obteve-se uma interação antagônica entre os óleos de *Piper* e *Lippia* nas diferentes proporções (Tabela 4).

Excelentes resultados foram obtidos a partir das misturas contendo os óleos essenciais de *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* nas três proporções testadas. Os resultados indicam que as misturas desses óleos interagem sinergisticamente na proporção de 75% de *Lippia* + 25% de *Schinus* e foram aditivas nas outras proporções testadas. Todas as combinações resultaram em efeito residual significativamente maior do que os óleos essenciais puros (Tabelas 2 e 4). Estes resultados sugerem que através de misturas binárias de óleos essenciais alguns óleos podem ter suas atividades potencializadas, reduzindo a concentração do produto, o que causaria menores custos e problemas no meio ambiente. Nenhuma das misturas testadas foi mais tóxica do que o controle positivo (Premio<sup>®</sup>) (Tabela 2).

A ação de misturas de óleos sobre larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella* foi avaliada por Pavela (2012). O óleo comercial de frutos de *Pongamia pinnata* (L.) Pierre (Fabaceae) foi testado em combinações com os óleos de *T. vulgaris* e *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae) através de pulverização. Como controle positivo os autores utilizaram óleo de nim, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), contendo 1% de azadiractina como princípio ativo.

Comparando os resultados da  $CL_{50}$  estimada para a mistura *P. pinnata* + *T. vulgaris* (95-5%) ( $CL_{50} = 0,31\%$ ) com aqueles obtidos para as misturas no presente estudo, apenas as misturas

PA+LS nas proporções 50-50% e 25-75% promoveram a mesma toxicidade obtida pelos autores. As demais misturas pesquisadas no presente trabalho apresentaram atividade inferior àquela encontrada para *P. pinnata* + *T. vulgaris* (95-5%).

A outra mistura pesquisada pelos mesmos autores, *P. pinnata* + *F. vulgare* (95-5%) ( $CL_{50} = 0,39\%$ ), revelou toxicidade semelhante a das misturas PA+LS nas três proporções avaliadas no presente estudo. As misturas LS+ST, também em todas as proporções estudadas, foram menos tóxicas do que *P. pinnata* + *F. vulgare* (95-5%). O controle positivo utilizado pelos autores, óleo de nim ( $CL_{50} = 0,28\%$ ), causou o mesmo nível de toxicidade obtido para PA+LS (50-50%) no presente estudo, entretanto o óleo de nim foi significativamente mais tóxico do que todas as demais misturas testadas no presente trabalho.

Com base nos resultados obtidos acima, a descoberta de novas substâncias ativas para o controle de pragas agrícolas possibilita o desenvolvimento de formulações baseadas em inseticidas botânicos de complexa composição química. Assim, formulações contendo mais de um óleo essencial devem ser mais eficientes no aproveitamento destas substâncias, mais econômicas e ainda retardar o desenvolvimento de resistência pelos artrópodes. Além disso, importante característica atribuída ao uso destas misturas está relacionada com a compatibilidade do uso destas formulações com outras estratégias no manejo integrado de pragas.

**Deterrência Alimentar dos Óleos Essenciais (*Piper aduncum*, *Lippia sidoides* e *Schinus terebinthifolius*), de suas Misturas Binárias e Componentes Químicos Individuais sobre *Plutella xylostella*.** Além dos testes de toxicidade, estudo sobre o efeito dos óleos essenciais/misturas e constituintes químicos individuais sobre *P. xylostella* também foi desenvolvido com o intuito de compreender o comportamento alimentar da praga, tornando viável a manipulação deste comportamento visando o futuro uso destas substâncias e/ou óleos em formulações para o seu controle.

Inicialmente foram calculados, através de testes preliminares, os Índices de Deterrência Alimentar (IDA) na concentração de 50µL/mL. Todos os óleos e misturas binárias em diferentes proporções dos óleos apresentaram IDA no mesmo nível do controle positivo Premio<sup>®</sup>, de 100% (Tabela 5). Alguns constituintes químicos previamente selecionados apresentaram IDA inferior a 100%. Entre os compostos testados que apresentaram IDA menor do que 100%, mas acima de 74% destacam-se, óxido de cariofileno, aromadendreno,  $\alpha$ -humuleno e terpinolene (IDA = 82,39; 78,87; 75,14 e 74,50%, respectivamente). Os constituintes  $\alpha$ -pineno (72,16%),  $\beta$ -Cariofileno (68,08%), e limoneno (67,31%) apresentaram atividade intermediária, enquanto  $\beta$ -pineno (63,38%) foi o menos deterrente. Comparando o IDA obtido para os constituintes químicos e o controle positivo, apenas carvacrol, dilapiol e timol apresentaram atividade semelhante a do Premio<sup>®</sup> (Tabela 6). Com base nos IDA calculados para os óleos, compostos e misturas binárias, as CD<sub>50</sub> foram estimadas e os resultados comparados com o controle positivo.

Nas Tabelas 5 e 6 são apresentadas as CD<sub>50</sub> estimadas para os óleos (*P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius*), suas misturas binárias e os compostos (dilapiol,  $\beta$ -cariofileno, terpinolene, timol, carvacrol, aromadendreno,  $\alpha$ -humuleno, óxido de cariofileno,  $\beta$ -pineno, D-limoneno e  $\alpha$ -pineno).

Os resultados obtidos para os testes de deterrência indicam que a ação das substâncias avaliadas sobre o comportamento alimentar da praga variou de acordo com o tipo de óleo/mistura, a proporção dos óleos dentro das misturas, bem como com a natureza dos constituintes químicos estudados.

Entre os óleos essenciais, *P. aduncum* (CD<sub>50</sub> = 1,08µL/mL) foi o mais ativo, sendo 1,58 e 10,66 vezes mais deterrente do que os óleos de *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* (CD<sub>50</sub> = 1,71 e 11,51µL/mL, respectivamente) (Tabela 5).

No entanto, comparando os resultados obtidos para os óleos essenciais com aquele observado para o controle positivo (Premio<sup>®</sup>) ( $CD_{50} = 0,0026\mu\text{L}/\text{mL}$ ), este produto formulado revelou maior atividade deterrente do que os óleos essenciais puros, sendo cerca de 400 vezes mais deterrente do que o óleo de *P. aduncum* (Tabela 5).

Embora o controle positivo tenha promovido alta deterrência em *P. xylostella*, vale ressaltar a importância do uso de óleos essenciais, principalmente o de *P. aduncum*, no manejo ecológico dessa praga. Além de retardar o desenvolvimento de resistência, a complexa composição química dos óleos essenciais, alta volatilidade e possível seletividade são características fundamentais para o desenvolvimento de novas formulações visando o controle de insetos-praga.

Nenhum registro na literatura foi encontrado sobre a ação dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* na deterrência alimentar de *P. xylostella*. Considerando o efeito de óleos essenciais de outras espécies botânicas sobre esta praga, o óleo de *L. petersonii* foi avaliado quanto a deterrência alimentar em larvas de terceiro ínstar. De acordo com os resultados, a maior concentração testada (6%) promoveu um IDA de apenas 63,16% (Purwatiningsih *et al.* 2012). Este resultado, comparado àqueles obtidos para os óleos investigados no presente estudo, indicam que os óleos de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius*, na concentração de 5% (50  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) foram mais deterrentes (IDA de 100%) do que o óleo de *L. petersonii*, sendo considerados mais eficientes no controle comportamental de *P. xylostella*. Tal fato pode ser explicado devido às diferenças na composição química dos óleos essenciais.

Considerando a complexidade da composição química dos óleos essenciais e objetivando o uso de componentes químicos em formulações para uso no controle de *P. xylostella* através de efeito comportamental, novos testes de deterrência alimentar foram realizados com onze

constituintes químicos selecionados a partir dos óleos essenciais de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* investigados previamente.

Comparando as  $CD_{50}$  estimadas para todos os constituintes químicos avaliados no presente estudo, o benzenóide, carvacrol, constituinte majoritário do óleo de *L. sidoides* (46,09%), foi o mais deterrente, com  $CD_{50}$  de 0,075 $\mu$ L/mL, sendo cerca de 14 vezes mais deterrente do que o fenilpropanóide dilapiol ( $CD_{50}$  = 1,10  $\mu$ L/mL), principal constituinte do óleo de *P. aduncum*. O benzenóide, timol e os sesquiterpenos, óxido de cariofileno e aromadendreno apresentaram atividades intermediárias com  $CD_{50}$  de 5,38; 23,69 e 31,65 $\mu$ L/mL, respectivamente. Por outro lado, os terpenos com baixa atividade, terpinolene,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno e  $\alpha$ -pineno ( $CD_{50}$  = 35,18; 35,85; 37,27 e 37,43 $\mu$ L/mL, respectivamente) apresentaram o mesmo nível de deterrência entre si. Já os monoterpenos,  $\beta$ -pineno e limoneno foram os menos eficientes, com  $CD_{50}$  de 52,19 e 73,11 $\mu$ L/mL, respectivamente (Tabela 6).

Quando comparados os efeitos dos constituintes químicos e o inseticida sintético Premio<sup>®</sup>, o controle positivo revelou maior deterrência, sendo cerca de 28 vezes mais deterrente do que o carvacrol (Tabela 6).

Entre os constituintes químicos identificados no óleo essencial de *P. aduncum* (Tabela 1), o fenilpropanóide dilapiol (79,0%), foi o mais deterrente, promovendo deterrência no mesmo nível observado para o óleo de *Piper* (Tabelas 5 e 6). Estes resultados sugerem que o dilapiol pode apresentar um importante papel na deterrência observada para o óleo de *P. aduncum*.

A ação dos constituintes químicos identificados no óleo de *Lippia* (Tabela 1) revelou que o constituinte majoritário carvacrol (46,09%) foi o mais deterrente ( $CD_{50}$  = 0,075 $\mu$ L/mL), seguido de timol (7,25%) ( $CD_{50}$  = 5,38 $\mu$ L/mL). No entanto, carvacrol foi cerca de 23 vezes mais deterrente do que o óleo essencial, enquanto timol apresentou atividade cerca de 3 vezes inferior àquela obtida para o óleo de *L. sidoides* (Tabelas 5 e 6). Esse resultado sugere que a ação

deterrente do óleo de *Lippia* pode ser atribuída a forte atividade desses constituintes, sem menosprezar as atividades e interações dos outros componentes não testados.

Nenhum dos compostos selecionados a partir do óleo de *Schinus* apresentou atividade deterrente maior ou no mesmo nível da atividade observada para o óleo. As  $CD_{50}$  estimadas para os compostos selecionados do óleo de *Schinus* variaram de 23,69 $\mu$ L/mL para o óxido de cariofileno a 52,19 $\mu$ L/mL para o  $\beta$ -pineno, enquanto que o óleo de *Schinus* apresentou uma  $CD_{50}$  de 11,51  $\mu$ L/mL (Tabelas 5 e 6). Estes resultados sugerem que a ação deterrente observada para o óleo de *Schinus* é proveniente da ação dos compostos selecionados ( $\beta$ -cariofileno (19,60%),  $\alpha$ -pineno (13,50%), óxido de cariofileno (2,70%),  $\alpha$ -humuleno (1,70%), aromadendreno (0,70%) e  $\beta$ -pineno (3,50%), que interagem sinergicamente entre si e com os demais constituintes não investigados deste óleo.

Nenhum estudo da ação deterrente sobre *P. xylostella* foi realizado, até o momento, com os compostos selecionados dos óleos objeto de investigação nesse trabalho. No entanto, há relatos na literatura da ação deterrente de monoterpenos, benzenóides e fenilpropanóides sobre outros lepidópteros, confirmando a hipótese de que constituintes químicos de óleos essenciais apresentam potencial inseticida. Sousa *et al.* (2013) observaram que  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno foram deterrentes na concentração de 175 $\mu$ g/cm<sup>2</sup> após 48h de exposição de larvas de *Pseudaletia unipuncta*, promovendo IDA de 32,50 e 20,30%, respectivamente. Estes resultados indicam que, mesmo sendo outra espécie de Lepidoptera, *P. xylostella*, objeto de investigação do presente estudo, foi mais susceptível aos monoterpenos (IDA de 72,16 e 63,38% para  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno na concentração de 50  $\mu$ L/mL) do que *P. unipuncta*. Esse resultado sugere que a ação de constituintes químicos de óleos essenciais atua de acordo com o tipo de artrópode exposto. De fato, outro estudo investigando a ação do carvacrol sobre *C. partellus*, *H. armigera* e *S. litura* (Koul *et al.* 2013) revelou que praticamente esse composto benzenóide não atuou como deterrente

de alimentação. Resultado inverso foi observado no presente trabalho, onde o carvacrol foi o que apresentou maior atividade deterrente sobre *P. xylostella*.

Recentemente, Akhtar *et al.* (2012) avaliaram a atividade deterrente de alimentação sobre *Trichoplusia ni* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) dos monoterpênicos,  $\beta$ -pineno, terpinolene e D-limoneno, os quais apresentaram, em testes preliminares, IDA abaixo de 55%. Ao contrário do obtido por Akhtar *et al.* (2012), esses compostos foram mais deterrentes sobre *P. xylostella*, com IDA acima de 63%. Além disso, o sesquiterpeno  $\beta$ -cariofileno, considerado em nosso estudo como deterrente alimentar sobre *P. xylostella*, atuou como atraente para *T. ni* com IDA de -12,10%. Estes resultados indicam que a atividade de constituintes químicos individuais sobre a deterrência alimentar de insetos-pragas depende não apenas da natureza química destes compostos, mas também do organismo-alvo em questão.

Visando aperfeiçoar a ação deterrente dos óleos essenciais investigados, misturas binárias desses óleos foram preparadas em diferentes proporções e os índices de deterrência alimentar (IDA) e concentração média de deterrência ( $CD_{50}$ ) calculados sobre *P. xylostella* e comparados com o controle positivo, Premio<sup>®</sup>. A Tabela 5 apresenta os valores dos IDA e  $CD_{50}$  estimadas para as misturas PA + LS e LS + ST nas proporções de 50-50; 25-75 e 75-25%. A atividade deterrente dessas misturas sobre *P. xylostella* variou de acordo com os óleos presentes nas misturas e com as proporções de cada óleo essencial.

Com base nos IDA, todas as misturas, independente do tipo de óleo e da proporção usada, apresentaram o mesmo nível de deterrência alimentar que o controle positivo, na concentração de 50 $\mu$ L/mL (Tabela 5). Nenhuma das misturas preparadas com *P. aduncum* e *L. sidoides* apresentou deterrência melhor do que o óleo de *Piper*, cujas misturas nas proporções investigadas foram antagonistas, de acordo com o índice de efeito fracional calculado (IEF) (Tabela 7). Apesar das deterrências alimentares das misturas LS + ST nas proporções de 50-50; 25-75 e 75-25% terem

potencializado a atividade investigada para o óleo de *Schinus*, a interação observada, com relação ao resultado obtido para o óleo de *Lippia* e de acordo com o IEF calculado para essas misturas, revelaram que elas foram consideradas indiferentes nas proporções de 25-75 e 75-25% (*Lippia* + *Schinus*) e antagonistas na proporção de 50-50% (LS + ST) (Tabela 7).

Apesar de nenhum efeito sinergista ou aditivo ter sido obtido por meio de ação deterrente de alimentação, os resultados encontrados sugerem que a combinação de diferentes óleos essenciais pode potencializar suas atividades, como no caso das misturas entre *L. sidoides* e *S. terebinthifolius*, em que a atividade observada para as proporções de 25-75 e 75-25% foram cerca de 2 vezes mais deterrentes do que o óleo de *Schinus*. Nenhuma das misturas testadas foi mais deterrente do que o controle positivo (Premio<sup>®</sup>) (Tabela 5).

Os resultados obtidos nesse estudo para misturas binárias de óleos essenciais indicam que o efeito destas misturas depende não apenas dos constituintes químicos presentes nos óleos, mas das diferentes proporções em que eles se encontram em cada mistura. Além disso, a atividade de uma mistura depende da susceptibilidade do organismo alvo (Cox *et al.* 2001). Estes fatos podem explicar as diferentes respostas encontradas para as interações, inclusive através das diferentes metodologias investigadas sobre *P. xylostella*.

Com base nos resultados obtidos para os óleos e seus constituintes químicos selecionados sobre *P. xylostella*, pode-se observar que a toxicidade associada a ação comportamental dos óleos testados, bem como de suas misturas binárias, em especial para o óleo de *Piper*, indica que estes são excelentes candidatos à preparação de um produto formulado tendo como princípio ativo óleos essenciais. No entanto, novos estudos devem ser conduzidos avaliando sua eficácia em escala de casa de vegetação e de campo, bem como sua seletividade aos inimigos naturais da praga objeto de estudo.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE – Proc. N° IBPG-0984-5.01/10) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Doutorado.

## Literatura Citada

- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários). 2014.**  
<http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>. Acesso: 12/12/2014.
- Akhtar, Y., E. Pages, A. Stevens, R. Bradbury, da Câmara, C.A.G. & M.B. Isman. 2012.** Effect of chemical complexity of essential oils on feeding deterrence in larvae of the cabbage looper. *Physiol. Entomol.* 37: 81-91.
- Akhtar, Y. & Isman, M.B. 2012.** Plant natural products for pest management: the magic of mixtures, p. 231-247. In I. Ishaaya, S.R. Palli & A.R. Horowitz (eds.), *Advanced Technologies for managing insect pests*. London, Springer Science & Business Media, 337p.
- Araújo, M.J.C., C.A.G. Câmara, F.S. Born, M.M. Moraes & C.A. Badji. 2012.** Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its componentes against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 139-155.
- Bassolé, I.H.N., A. Lamien-Meda, B. Bayala, S. Tirogo, C. Franz, J. Novak, R.C. Nebié & M.H. Dicko. 2010.** Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Molecules* 15: 7825-7839.
- Brugger, K.E., P.G. Cole, I.C. Newman, N. Parker, B. Scholz, P. Suvagis, G. Walker & T.G. Hammond. 2010.** Selectivity of chlorantraniliprole to parasitoid wasps. *Pest Manag. Sci.* 66: 1075-1081.
- Castelo Branco, M., F.H. França, L.A. Pontes & P.S.T. Amaral. 2003.** Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações da traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. *Hortic. Bras.* 21: 549-552.
- Castelo Branco, M. & F.H. França. 2001.** Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae), p. 85-89. In E.F. Vilela, R.A. Zucchi & F. Cantor (eds.), *Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil*. Ribeirão Preto, Ed. Holos, 173p.
- Castelo Branco, M. & A.G. Gatehouse. 1997.** Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. *An. Soc. Entomol. Brasil* 26: 75-79.

- Castelo Branco, M., F.H. França & G.L. Vollas Bôas. 1997.** Traça-das-crúíferas *Plutella xylostella*, artrópodes de importância econômica. Comunicado Técnico Embrapa Hortaliças.
- Cavalcanti, S.C.H., E. dos S. Niculau, A.F. Blank, C.A.G. Câmara, I.N. Araújo & P.B. Alves. 2010.** Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). Bioresour. Technol. 101: 829-832.
- Chaudhary, A., P. Sharma, G. Nadda, D. K. Tewary & B. Singh. 2011.** Chemical composition and larvicidal activities of the Himalayan cedar, *Cedrus deodara* essential oil and its fractions against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. J. Insect Sci. 11: 1-10.
- Cheng, L., G. Yu, Z. Chen & Z. Li. 2008.** Insensitive acetylcholine receptor conferring resistance of *Plutella xylostella* to nereistoxin insecticides. Agric. Sci. China 7: 847-852.
- Cox, S.D., C.M. Mann & J.L. Markham. 2001.** Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J. Appl. Microbiol. 91: 492-497.
- Dadang, E.D.F. & D. Priyono. 2009.** Effectiveness of two botanical insecticide formulations to two major cabbage insect pests on field application. J. ISSAAS 15: 42-51.
- EPA. Environmental Protection Agency. 2008.** Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. Pesticide Fact Sheet. United States. 77p.
- Furlong, M.J., D.J. Wright & L.M. Dossall. 2013.** Diamondback moth ecology and management: problems, progress and prospects. Annu. Rev. Entomol. 58: 517-541.
- Gonçalves, M.E.C., J.V. Oliveira, R. Barros & M.P.L. Lima. 2001.** Extratos aquosos de plantas e o comportamento do ácaro verde da mandioca. Sci. Agric. 58: 475-479.
- Gong, W., H. Yan, L. Gao, Y. Guo & C. Xue. 2014.** Chlorantraniliprole resistance in the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). J. Econ. Entomol. 107: 806-814.
- Houghton, P. 2009.** Synergy and polyvalence: paradigms to explain the activity of herbal products, p. 85-94. In P.K. Mukherjee & P. Houghton (eds.), Evaluation of herbal medicinal products: Perspectives on quality, safety and efficacy. London, Pharmaceutical Press, 502p.
- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603-608.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51: 45-66.
- Jemâa, J.M.B., S. Haouel & M.L. Khouja. 2013.** Efficacy of Eucalyptus essential oils fumigant control against *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under various space occupation conditions. J. Stored Prod. Res. 53: 67-71.

- Kahaliq, A., M.N.R. Attique & A.H. Sayyed. 2007.** Evidence for resistance to pyrethroids and organophosphates in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from Pakistan. Bull Entomol Res 97: 191-200.
- Koul, O., R. Singh, B. Kaur & D. Kanda. 2013.** Comparative study on the behavioral response and acute toxicity of some essential oil compounds and their binary mixtures to larvae of *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera litura* and *Chilo partellus*. Ind. Crop Prod. 49: 428-436.
- Kumrungsee, N., W. Pluempanupat, O. Koul & V. Bullangpoti. 2014.** Toxicity of essential oil compounds against diamondback moth, *Plutella xylostella*, and their impact on detoxification enzyme activities. J. Pest Sci., DOI 10.1007/s10340-014-0602-6.
- Kwon, D.H., B.R. Choi, H.M. Park, S.H. Lee, T. Miyata, J.M. Clark & S.H. Lee. 2004.** Knockdown resistance allele frequency in field populations of *Plutella xylostella* in Korea. Pestic. Biochem. Physiol. 80: 21-30.
- LeOra Software. 1987.** POLO - PC: a User's Guide to Probit Logit Analysis. LeOra Software, Berkely, CA.
- Monnerat, R.G., S.C.M. Leal-Bertiolo, D.J. Bertioli, T.M. Butt & D. Bordat. 2004.** Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. Hort. Bras. 22: 607-609.
- Olivero-Verbel, J., I. Tirado-Ballestas, K. Caballero-Gallardo & E. E. Stashenko. 2013.** Essential oils applied to the food act as repellents toward *Tribolium castaneum*. J. Stored Prod. Res. 55: 145-147.
- Pavela, R. 2012.** Efficacy of three newly developed botanical insecticides based on pongan oil against *Plutella xylostella* L. larvae. J. Biopest. 5: 62-70.
- Praça, L.B., F.R. Ramos, F.W. Oliveira, C.M. Soares, E. Sujii & R.G. Monnerat. 2007.** Avaliação da susceptibilidade da *Plutella xylostella* (traça das crucíferas) a produtos a base de *Bacillus thuringiensis* e deltametrina em cultivo de repolho no Distrito Federal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 176, EMBRAPA.
- Purwatiningsih, N. Heather & E. Hassan. 2012.** Efficacy of *Leptospermum petersonii* oil, on *Plutella xylostella*, and its parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. J. Econ. Entomol. 105: 1379-1384.
- Rapper, S., G. Kamatou, A. Viljoen & S. Vuuren. 2013.** The *in vitro* antimicrobial activity of *Lavandula angustifolia* essential oil in combination with other aromatherapeutic oils. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/852049>
- Ribeiro, L.M.S., V. Wanderley-Teixeira, H.N. Ferreira, Á.A.C. Teixeira & H.A.A. Siqueira. 2013.** Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Putella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Bull. Entomol. Res. 104: 88-96.

- Robertson, J.L., N.E. Savin, H.K. Preisler & R.M. Russel. 2007.** Bioassays with arthropods. California, CRC Press, 224p.
- Rondelli, V.M., D. Pratisoli, H.J.G. Santos Junior, H.B. Zago, L.C. Machado, H.S. Rodrigues & W.R. Valbon. 2013.** Insecticide activity of *Beauveria bassiana* and castor bean oil against *Plutella xylostella* under greenhouse. Biosci. J. 29: 1187-1193.
- SAS Institute. 2002.** SAS user's guide: Statistics, version 9.0, 7th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Setiawati, W., R. Murtiningsih & A. Hasyim. 2011.** Laboratory and field evaluation of essential oils from *Cymbopogon nardus* as oviposition deterrent and ovicidal activities against *Helicoverpa armigera* Hubner on chili pepper. Indonesian J Agric Sci12: 9-16.
- Silva, I., R.M. Pereira, S.S. Moreira, M.C. Picanço, A.F. Blank, R.N.S. Campos, S.O. Campos & L. Bacci. 2011.** Óleo essencial de patchouli no controle da traça-das-crucíferas. Hortic. Bras. 29: 870-875.
- Silva, A.B., T. Silva, E.S. Franco, S.A. Rabelo, E.R. Lima, R.A. Mota, C.A.G. da Câmara, N.T. Pontes-Filho & J.V. Lima-Filho. 2010.** Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius*, Raddi). Braz. J. Microbiol. 41: 158-163.
- Sousa, R.M.O.F., J.S. Rosa, L. Oliveira, A. Cunha & M. Fernandes-Ferreira. 2013.** Activities of Apiaceae essential oils against Armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Agric. Food Chem. 61: 7661-7672.
- Tewary, D.K., A. Bhardwaj & A. Shanker. 2005.** Pesticidal activities in five medicinal plants collected from mid hills of western Himalayas. Ind. Crop Prod. 22: 241-247.
- Torres, A.L., A.L. Boiça Júnior, C.A.M. Medeiros & R. Barros. 2006.** Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. Bragantia 65: 447-457.
- Troczka, B., C.T. Zimmer, J. Elias, C. Schorn, C. Bass, T.G.E. Davies, L.M. Field, M.S. Williamson, R. Slater & R. Nauen. 2012.** Resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) is associated with a mutation in the membrane-spanning domain of the ryanodine receptor. Insect Biochem. Molec. Biol. 42: 873-880.
- Ulmer, B., C. Gillott, D. Woods & M. Erlandson. 2002.** Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. Crop Prot. 21: 327-331.
- Verkerk, R.H.J. & D.J. Wright. 1996.** Multitrophic interactions and management of the diamondback moth: a review. Bull. Entomol. Res. 86: 205-216.

- Wang, X. & Y. Wu. 2012.** High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field populations of *Plutella xylostella*. J Econ Entomol 105: 1019-1023.
- Yi, C., M. Kwon, T.T. Hieu, Y. Jang & Y. Ahn. 2007.** Fumigant toxicity of plant essential oils to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) and *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae). J. Asia-Pacific Entomol. 10: 157-163.
- Zago, H.B., H.A.A. Siqueira, E.J.G. Pereira, M.C. Picanço & R. Barros. 2014.** Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. Pest Manage. Sci. 70: 488-495.

Tabela 1. Constituintes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) obtidos da literatura.

Constituinte químico	<i>Piper aduncum</i> Araújo <i>et al.</i> (2012)	<i>Schinus terebinthifolius</i> Silva <i>et al.</i> (2010)	<i>Lippia sidoides</i> Cavalcanti <i>et al.</i> (2010)
Carvacrol	-----	-----	46,09
Dilapiol	79,0 ± 0,4	-----	-----
Timol	-----	-----	7,25
Óxido de cariofileno	-----	2,7 ± 0,2	-----
Aromadendreno	-----	0,7 ± 0,0	-----
Terpinolene	0,1 ± 0,0	-----	0,06
β-Cariofileno	0,6 ± 0,1	19,6 ± 0,3	0,19
α-Humuleno	4,5 ± 0,9	1,7 ± 0,1	-----
α-Pineno	-----	13,5 ± 0,1	0,42
β-Pineno	0,1 ± 0,0	3,5 ± 0,1	-----
Limoneno	-----	-----	0,19

Tabela 2. Atividade residual dos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae), suas misturas binárias e do inseticida químico sintético Premio<sup>®</sup> sobre *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório (25 ± 1°C, 65 ± 5% UR e 12 h de fotofase).

Óleo/Inseticida/ Misturas	n <sup>1</sup>	GL <sup>2</sup>	Inclinação ± EP <sup>3</sup>	χ <sup>24</sup>	CL <sub>50</sub> (μL/mL) (IC 95%)	RT <sub>50</sub> <sup>5*</sup> (I.C. 95%)
Premio <sup>®</sup>	480	5	1,68 ± 0,14	2,24	0,001 a (0,001-0,002)	-
<i>Piper aduncum</i> (PA)	420	4	2,44 ± 0,22	3,86	0,31 b (0,26-0,35)	206,58 (170,55-250,22)
<i>Lippia sidoides</i> (LS)	416	4	2,27 ± 0,20	3,81	27,94 g (23,62-32,74)	18.911,25 (15.456,95-23.137,51)
<i>Schinus</i> <i>terebinthifolius</i> (ST)	360	3	3,46 ± 0,33	2,50	83,42 h (73,83-93,68)	55.777,12 (44.786,99-69.464,08)
PA + LS (50-50%)	420	4	3,14 ± 0,28	3,68	3,93 c (3,48-4,41)	2.648,03 (1.242,67-5.642,71)
PA + LS (25-75%)	420	4	2,89 ± 0,27	3,90	4,48 cd (3,91-5,01)	3.005,38 (2.500,32-3.612,47)
PA + LS (75-25%)	420	4	6,89 ± 0,62	3,96	4,73 d (4,48-4,99)	3.178,87 (2.803,99-3.603,86)
LS + ST (75-25%)	420	4	2,92 ± 0,27	3,73	9,36 e (8,22-10,56)	6.259,78 (5.231,47-7.490,21)
LS + ST (50-50%)	480	5	2,75 ± 0,24	4,53	11,55 e (10,18-12,99)	7.748,17 (6.528,68-9.195,46)
LS + ST (25-75%)	480	5	3,27 ± 0,28	3,67	18,27 f (16,48-20,18)	12.227,00 (10.621,97-14.074,55)

<sup>1</sup>Número total de larvas.

<sup>2</sup>Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado.

<sup>3</sup>Erro-padrão da média.

<sup>4</sup>Valor do qui-quadrado (P > 0,05).

<sup>5</sup>Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson *et al.* (2007). \*Razão de toxicidade significativa a 5% de probabilidade quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0.

Tabela 3. Atividade residual dos constituintes químicos individuais identificados nos óleos essenciais de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae), sobre *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 5\%$  UR e 12 h de fotofase).

Constituinte químico	n <sup>1</sup>	GL <sup>2</sup>	Inclinação $\pm$ EP <sup>3</sup>	$\chi^2$ <sup>4</sup>	CL <sub>50</sub> (µL/mL) (IC 95%)	RT <sub>50</sub> <sup>5*</sup> (I.C. 95%)
Premio <sup>®</sup>	480	5	1,68 $\pm$ 0,14	2,24	0,001 a (0,001-0,002)	-
Dilapiol	360	3	1,92 $\pm$ 0,19	3,13	1,01 b (0,70-1,44)	679,80 (533,71-865,87)
Carvacrol	420	4	2,27 $\pm$ 0,21	4,32	6,03 c (4,71-7,60)	4.046,85 (3.302,41-4.959,09)
Terpinolene	420	4	1,23 $\pm$ 0,11	4,05	9,03 cd (5,78-13,71)	6.006,21 (4.376,78-8.242,25)
Timol	360	3	2,92 $\pm$ 0,28	3,39	13,60 d (10,73-17,63)	9.139,92 (7.804,61-10.703,70)
$\beta$ -Cariofileno	480	5	1,83 $\pm$ 0,15	4,23	40,46 e (33,64-48,36)	27.504,44 (21.804,77-34.693,98)
Aromadendreno	360	3	2,75 $\pm$ 0,26	2,59	49,34 ef (42,60-57,05)	33.260,32 (29.045,55-38.086,69)
$\alpha$ -Humuleno	420	4	2,60 $\pm$ 0,23	4,24	55,61 ef (44,89-67,92)	37.126,90 (31.719,29-43.456,40)
Óxido de cariofileno	480	5	2,64 $\pm$ 0,23	4,90	60,99 f (53,61-68,96)	40.521,36 (34.907,36-47.038,22)

<sup>1</sup>Número total de larvas.

<sup>2</sup>Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado.

<sup>3</sup>Erro-padrão da média.

<sup>4</sup>Valor do qui-quadrado ( $P > 0,05$ ).

<sup>5</sup>Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson *et al.* (2007). \*Razão de toxicidade significativa a 5% de probabilidade quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0.

Tabela 4. Índice de efeito fracional (IEF) e interação entre os óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) através de efeito residual sobre *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 5\%$  UR e 12 h de fotofase).

Misturas	IEF	Interação
<i>Piper aduncum</i> + <i>Lippia sidoides</i> (50-50%)	12,82	Antagonista
<i>Piper aduncum</i> + <i>Lippia sidoides</i> (25-75%)	14,61	Antagonista
<i>Piper aduncum</i> + <i>Lippia sidoides</i> (75-25%)	15,43	Antagonista
<i>Lippia sidoides</i> + <i>Schinus terebinthifolius</i> (50-50%)	0,55	Aditiva
<i>Lippia sidoides</i> + <i>Schinus terebinthifolius</i> (25-75%)	0,87	Aditiva
<i>Lippia sidoides</i> + <i>Schinus terebinthifolius</i> (75-25%)	0,45	Sinergista

Tabela 5. Atividade deterrente de alimentação dos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae), suas misturas binárias, e do inseticida químico sintético Premio<sup>®</sup> em *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório (25 ± 1°C, 65 ± 5% UR e 12 h de fotofase).

Óleo/Inseticida/Misturas	IDA <sup>1</sup> (%) (±EP) (50 µL/mL)	CD <sub>50</sub> <sup>2</sup> (µL/mL) (IC 95%)	R <sup>2 3</sup>
Premio <sup>®</sup>	100,00 ± 0,00 a	0,0026 a (0,0024-0,0028)	0,59
<i>Piper aduncum</i> (PA)	100,00 ± 0,00 a	1,08 b (0,99-1,18)	0,54
<i>Lippia sidoides</i> (LS)	100,00 ± 0,00 a	1,71 c (1,58-1,87)	0,56
<i>Schinus terebinthifolius</i> (ST)	100,00 ± 0,00 a	11,51 h (10,66-12,52)	0,51
PA + LS (25-75%)	100,00 ± 0,00 a	3,23 d (3,15-3,32)	0,93
PA + LS (75-25%)	100,00 ± 0,00 a	3,44 e (3,35-3,55)	0,92
PA + LS (50-50%)	100,00 ± 0,00 a	3,55 e (3,45-3,65)	0,93
LS + ST (75-25%)	100,00 ± 0,00 a	5,38 f (5,23-5,53)	0,96
LS + ST (25-75%)	100,00 ± 0,00 a	5,49 f (5,30-5,69)	0,86
LS + ST (50-50%)	100,00 ± 0,00 a	10,21 g (10,04-10,39)	0,97

<sup>1</sup>Médias ± erro padrão do índice de deterrência alimentar (IDA) calculado na concentração de 50 µL/mL. Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>Concentração que promove 50% de deterrência alimentar comparado ao controle.

<sup>3</sup>Coefficiente de determinação.

Tabela 6. Atividade deterrente de alimentação dos constituintes químicos individuais identificados nos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) sobre *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 5\%$  UR e 12 h de fotofase).

Constituinte químico	IDA <sup>1</sup> (%) ( $\pm$ EP) (50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	CD <sub>50</sub> <sup>2</sup> ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) (IC 95%)	R <sup>23</sup>
Premio <sup>®</sup>	100,00 $\pm$ 0,00 a	0,0026 a (0,0024-0,0028)	0,59
Carvacrol	100,00 $\pm$ 0,00 a	0,075 b (0,071-0,080)	0,76
Dilapiol	100,00 $\pm$ 0,00 a	1,10 c (1,06-1,15)	0,87
Timol	100,00 $\pm$ 0,00 a	5,38 d (5,29-5,57)	0,89
Óxido de cariofileno	82,39 $\pm$ 2,63 b	23,69 e (22,62-24,87)	0,80
Aromadendreno	78,87 $\pm$ 1,56 bc	31,65 f (30,28-33,15)	0,82
Terpinolene	74,50 $\pm$ 1,19 bcd	35,18 g (33,78-36,70)	0,72
$\beta$ -Cariofileno	68,08 $\pm$ 1,20 de	35,85 g (34,99-36,76)	0,88
$\alpha$ -Humuleno	75,14 $\pm$ 1,28 bcd	37,27 g (35,72-38,96)	0,84
$\alpha$ -Pineno	72,16 $\pm$ 1,12 cd	37,43 g (34,34-39,78)	0,64
$\beta$ -Pineno	63,38 $\pm$ 2,16 e	52,19 h (49,47-55,22)	0,77
Limoneno	67,31 $\pm$ 4,09 de	73,11 i (68,69-78,15)	0,54

<sup>1</sup>Médias  $\pm$  erro padrão do índice de deterrência alimentar (IDA) calculado na concentração de 50  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>Concentração que promove 50% de deterrência alimentar comparado ao controle.

<sup>3</sup>Coefficiente de determinação.

Tabela 7. Índices de efeito fracional (IEF) e interação entre os óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) (PA), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) (ST) e *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) (LS) através de deterrência alimentar sobre *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 5\%$  UR e 12 h de fotofase).

Misturas	IEF	Interação
PA + LS (50-50%)	5,36	Antagonista
PA + LS (25-75%)	4,88	Antagonista
PA + LS (75-25%)	5,20	Antagonista
LS + ST (50-50%)	6,86	Antagonista
LS + ST (25-75%)	3,69	Indiferente
LS + ST (75-25%)	3,61	Indiferente

### CAPÍTULO 3

POTENCIAL ACARICIDA DE MISTURAS BINÁRIAS DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE  
*Tetranychus urticae* KOCH (TETRANYCHIDAE) E *Neoseiulus californicus* MCGREGOR  
(PHYTOSEIIDAE)<sup>1</sup>

MÁRIO J. C. ARAÚJO<sup>2</sup>, CLÁUDIO A.G. CÂMARA<sup>3</sup> E CLÉCIO S. RAMOS<sup>3</sup>

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

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

---

<sup>1</sup>Araújo, M.J.C., C.A.G. Câmara & C.S. Ramos. Potencial acaricida de misturas binárias de óleos essenciais sobre *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae) e *Neoseiulus californicus* McGregor (Phytoseiidae). A ser submetido.

RESUMO – Este trabalho teve por objetivo verificar a susceptibilidade de *Tetranychus urticae* a misturas binárias dos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* (PA) e *Melaleuca leucadendron* (ML), dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius*, assim como investigar se existe sinergismo entre os óleos. Os controles positivos, eugenol e Vertimec<sup>®</sup> 18 EC, foram os mais tóxicos por fumigação ( $CL_{50}=0,003\mu\text{L/L}$  ar) e residual ( $CL_{50}=0,0006\mu\text{L/mL}$ ), respectivamente. Entre as misturas, por fumigação, as mais tóxicas foram ML+PA (50-50%) e PA+SM (50-50%) ( $CL_{50}=0,15$  e  $0,23\mu\text{L/L}$  ar, respectivamente). Por outro lado, ML+SM (50-50%) apresentou maior toxicidade residual ( $CL_{50}=6,95\mu\text{L/mL}$ ). Os índices de efeito fracional revelaram que, por fumigação e efeito residual, nenhuma mistura promoveu sinergismo. Apenas ML+SM (50-50%) foi considerada aditiva através do teste residual. A ação fumigante e residual dos óleos essenciais e suas misturas sobre a fecundidade de *T. urticae* também foi discutida. Os testes de fumigação com os óleos puros sobre *Neoseiulus californicus* indicaram que estes são considerados levemente nocivos ao predador, enquanto a ação residual revelou PA, SV e SM como não nocivos, e ML e ML+SM (50-50%) levemente nocivos. Os testes realizados em casa de vegetação mostraram que, após 72h, a mistura ML+SM (50-50%) revelou a mesma toxicidade do acaricida. Estes resultados sugerem que as misturas apresentam toxicidade e a ação de ML+SM (50-50%) em casa de vegetação indica que esta mistura deve ser mais investigada, sendo uma boa candidata para uso em formulações visando o manejo integrado de *T. urticae*.

PALAVRAS-CHAVE: Ácaro rajado, ação acaricida, acaricida natural, sinergismo, toxicidade

POTENTIAL ACARICIDE OF BINARY MIXTURES OF ESSENTIAL OILS ON *Tetranychus urticae* KOCH (TETRANYCHIDAE) AND *Neoseiulus californicus* MCGREGOR (PHYTOSEIIDAE)

ABSTRACT – This study aimed to verify the *Tetranychus urticae* susceptibility to binary mixtures of essential oils from leaves of *Piper aduncum* (PA) and *Melaleuca leucadendron* (ML), green fruits (SV) and mature fruits (SM) of *Schinus terebinthifolius*, and investigate whether there is synergy between the oils. The positive controls, eugenol and Vertimec<sup>®</sup> 18 EC, were the most toxic by fumigation and residual, with LC<sub>50</sub> of 0.003µL/L air and 0.0006µL/mL, respectively. Among the mixtures, by fumigation, the most toxic were ML+PA (50-50%) and PA+SM (50-50%) (LC<sub>50</sub>=0.15 and 0.23µL/L air, respectively). On the other hand, ML+SM (50-50%) had better residual toxicity (LC<sub>50</sub>=6.95µL/mL). The fractional effect index revealed that, by fumigation and residual effect, no mixing synergistic interaction. Only ML+SM (50-50%) was considered additive by the residual test. The fumigant and residual action of essential oils and their mixtures on fecundity of *T. urticae* was also discussed. The fumigation tests with pure oils on *Neoseiulus californicus* indicated that these are considered slightly harmful to the predator, while the residual action revealed PA, SV and SM as harmless, and ML and ML+SM (50-50%) slightly harmful. Tests conducted in the greenhouse showed that, after 72h, the mixture ML+SM (50-50%) showed the same toxicity the acaricidal. These results suggest that mixtures exhibit toxicity and the action of ML+SM (50-50%) in greenhouse indicates that this mixture should be investigated further, being a good candidate for use in formulations aimed at integrated management of *T. urticae*.

KEY WORDS: Two-spotted spider mite, acaricidal action, natural acaricidal, synergism, toxicity

## Introdução

Entre as principais pragas de casa de vegetação e culturas de ambiente aberto, os ácaros pertencentes à Família Tetranychidae (Acari) podem ser considerados de grande importância mundial (Miresmailli *et al.* 2006). Dentre as espécies, o ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch, teve o seu primeiro registro em Petrolina, no estado de Pernambuco, após o início dos cultivos irrigados, em 1985 (Moraes 2001).

Esta espécie apresenta um ciclo biológico curto e uma alta taxa de fecundidade, podendo chegar a uma média de 116,3 ovos/fêmea (Silva *et al.* 1985). Além disso, é uma praga polífaga e cosmopolita, sendo responsável por sérios danos em culturas de grande interesse econômico (Vassiliou & Kitsis 2013).

A importância econômica desta praga está relacionada ao seu hábito alimentar: os ácaros injetam o produto das glândulas salivares nas células da planta hospedeira (Moraes & Flechtmann 2008). Esta lesão celular causa a perda de clorofila, reduzindo a taxa de fotossíntese da planta (Gorman *et al.* 2002). Como consequências da sua alimentação, ataques muito intensos, podem provocar manchas necróticas, chegando a causar rasgadura e até mesmo a queda das folhas (Moraes & Flechtmann 2008), o que resulta em uma redução na qualidade do produto (Park & Lee 2002).

O seu controle vem sendo realizado, principalmente, com produtos químicos sintéticos (Vassiliou & Kitsis 2013), destacando-se como acaricidas registrados para o controle de *T. urticae* em diversas culturas: piretroide, avermectina, sulfito de alquila, organofosforados, organoclorados, milbemicinas, feniltiouréia, entre outros (AGROFIT 2014). Entretanto, apesar de eficientes, estes produtos usados de forma inadequada possibilitam efeitos indesejáveis, como impactos ao ambiente, contaminação das culturas com resíduos tóxicos (Oliveira *et al.* 1999) e

ainda promover desequilíbrio biológico, devido à eliminação de organismos benéficos (Degrande *et al.* 2002).

Além disso, uma rápida seleção de populações resistentes de *T. urticae* pode ser favorecida por seu curto ciclo biológico e alta fecundidade (Stumpf & Nauen 2001). Até o momento, *T. urticae* apresenta resistência a 94 ingredientes ativos, a qual tem sido registrada em mais de 130 localidades, inclusive no Brasil (DARP 2014).

Visando minimizar estes problemas, diversas pesquisas com produtos de origem botânica vêm sendo realizadas. Entre estes produtos, os óleos essenciais merecem atenção devido a características como baixa toxicidade aos mamíferos, rápida degradação no ambiente, complexa composição química e possível seletividade (Isman 2000). Estas características, aliadas a sua alta volatilidade, permitem o seu uso na agricultura como alternativa aos acaricidas químicos sintéticos. No entanto, combinações de diferentes óleos essenciais podem vir a potencializar seus efeitos. Assim, utilizando uma menor concentração, os riscos ao meio ambiente e os custos para o controle de determinada praga podem ser reduzidos.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram investigar a atividade acaricida de misturas binárias dos óleos essenciais de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *Melaleuca leucadendron* L. (Myrtaceae) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em *T. urticae* e sua seletividade em *Neoseiulus californicus* McGregor, assim como verificar se existe sinergismo entre os diferentes óleos essenciais.

## **Material e Métodos**

Todos os experimentos foram realizados nos Laboratórios de Inseticidas Naturais e de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob condições ambientais de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $65 \pm 5\%$  e 12 h de

fotofase. Os óleos essenciais foram obtidos no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química, todos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

**Material Vegetal e Óleos Essenciais.** As espécies vegetais selecionadas para o presente estudo são apresentadas na Tabela 1. Todas as misturas binárias foram preparadas nas proporções de 50-50%, 25-75% e 75-25%. As folhas frescas de cada espécie foram coletadas separadamente e trituradas com água destilada. Os óleos essenciais foram obtidos através da técnica de hidrodestilação por um período de 2h em um aparelho tipo Clevenger modificado.

Cada óleo foi separado da água por diferença de densidade, seco com sulfato de sódio anidro e armazenado sob refrigeração (+5° C) em recipientes de vidro vedados antes da sua utilização nos experimentos. As CL<sub>50</sub> por fumigação e efeito residual utilizadas como referências no presente estudo foram estimadas por Araújo *et al.* (2012), Nascimento *et al.* (2012) e Neves (2013) (Tabela 2).

**Criação de *Tetranychus urticae*.** A população de *T. urticae* utilizada nos experimentos foi obtida a partir da criação mantida no Laboratório de Acarologia Agrícola do Departamento de Agronomia da UFRPE, oriunda de Piracicaba, Estado de São Paulo, e criada sem nenhuma exposição a acaricidas, desde 2001 em laboratório. Para a criação foram utilizadas plantas de feijão-de-porco, *Canavalia ensiformes* L. (Fabaceae), mantidas no Laboratório de Inseticidas Naturais sob condições de 25 ± 1°C, umidade relativa de 65 ± 5% e fotofase de 12 h.

**Criação de *Neoseiulus californicus*.** A população de *N. californicus* foi obtida a partir da criação do Laboratório de Acarologia Agrícola do Departamento de Agronomia da UFRPE, procedente do município de Bonito, Estado de Pernambuco e criada sem nenhuma exposição a acaricidas desde 2010, em laboratório. A criação foi mantida no Laboratório de Biologia de Insetos, e a metodologia utilizada foi adaptada de Monteiro (2002), na qual foram utilizadas arenas plásticas mantidas em B.O.D. à temperatura média de 27°C e 12 h de fotofase.

As arenas foram confeccionadas com discos de espuma de polietileno umedecidos com água destilada e um disco de papel-filtro sobre a espuma, no qual foi mantida uma folha de feijão-de-porco com a margem circundada por algodão hidrófilo umedecido, evitando a fuga dos ácaros predadores. Para estimular a oviposição, fibras de algodão foram colocadas sobre as folhas de feijão-de-porco. Como fonte de alimento, a cada dois dias foram oferecidos *T. urticae* e pólen de mamona *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae).

**Bioensaios de Fumigação sobre *Tetranychus urticae* e *Neoseiulus californicus*.** A metodologia utilizada para os testes de fumigação sobre o ácaro rajado foi realizada conforme descrito por Araújo *et al.* (2010), na qual as câmaras de fumigação foram constituídas por recipientes de vidro com capacidade para 2,5 L. Durante os experimentos foram utilizadas placas-de-petri (8 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura) contendo um disco de papel-filtro umedecido com água destilada sobre o qual foram colocados três discos de folhas de feijão-de-porco com 2,5cm de diâmetro cada. Dez fêmeas adultas do ácaro rajado foram transferidas para cada disco de folha e cada placa-de-petri, contendo 30 ácaros, foi colocada em uma câmara de fumigação.

Para o ácaro predador a metodologia de fumigação foi semelhante a utilizada para o ácaro rajado, com modificações. Para esta espécie, em cada placa-de-petri foi colocado um disco de espuma de polietileno umedecida com água destilada sob o disco de papel-filtro. Algodão umedecido foi colocado ao redor de cada disco de folha de feijão-de-porco para evitar a fuga dos ácaros. Como fonte de alimento para *N. californicus* foram oferecidos ácaro rajado e pólen de mamona.

Para ambas as espécies de ácaros, os óleos essenciais puros, e/ou suas misturas binárias foram aplicadas com pipetas automáticas em tiras de papel-filtro (5 x 3 cm) presas à superfície interna das câmaras de fumigação. Para *T. urticae*, as concentrações utilizadas das misturas binárias variaram de 0,008 a 12µL/L de ar. A seletividade dos óleos essenciais puros e das

misturas binárias que promoveram os melhores efeitos (aditivo ou sinergista) em *T. urticae* foi verificada também em *N. californicus*.

As concentrações utilizadas para o ácaro predador foram equivalentes àquelas que promoveram acima de 95% de mortalidade para cada óleo essencial ou suas misturas nos testes com *T. urticae*. Para a diluição dos óleos essenciais e suas misturas foi utilizado diclorometano. No controle foi aplicado apenas diclorometano. Como controle positivo foi utilizado eugenol, em concentrações que variaram entre  $6,4 \times 10^{-5}$  e  $1,2\mu\text{L/L}$  de ar. Para cada tratamento foram realizadas três repetições, sendo cada repetição constituída por uma câmara de fumigação contendo 30 ácaros, totalizando 90 ácaros por tratamento. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado. As avaliações foram realizadas após um período de exposição de 24h nas quais os ácaros incapazes de caminhar uma distância superior ao comprimento do seu corpo após um leve toque com a extremidade de um pincel de cerdas finas (número 00) foram considerados mortos.

Os dados de mortalidade de *T. urticae* foram submetidos à análise de Probit e as  $CL_{50}$  estimadas utilizando-se o programa POLO - PC (LeOra 1987). As razões de toxicidade foram calculadas segundo o método de Robertson *et al.* (2007), com seus intervalos de confiança a 95%, sendo consideradas significativas quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0. O teste T foi utilizado para comparação do número de ácaros predadores e o número de *T. urticae* mortos na mesma concentração, através do programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

**Bioensaios de Efeito Residual em *Tetranychus urticae* e *Neoseiulus californicus*.** A metodologia dos experimentos de efeito residual foi adaptada de Miresmailli *et al.* (2006). Discos de folha de feijão-de-porco de 2,5 cm de diâmetro foram utilizados nos testes. As concentrações utilizadas das misturas binárias dos óleos essenciais sobre *T. urticae* variaram de 0,5 a  $200,0\mu\text{L/mL}$ . O acaricida sintético Vertimec<sup>®</sup> 18 EC, pertencente ao grupo químico avermectina,

o qual contém abamectina como ingrediente ativo, foi utilizado como controle positivo em concentrações variando entre  $2,0 \times 10^{-5}$  e  $0,02 \mu\text{L/mL}$ .

Para o ácaro predador a metodologia foi a mesma utilizada para o ácaro rajado. Sobre *N. californicus* foram testados os óleos essenciais puros e as misturas binárias que promoveram efeito aditivo ou sinergista em *T. urticae* nas mesmas concentrações que promoveram acima de 95% de mortalidade nos testes com *T. urticae*. As soluções contendo os óleos essenciais ou suas misturas binárias foram preparadas através da diluição dos óleos essenciais em metanol. Os discos controle foram tratados apenas com metanol.

Cada disco de folha foi imerso na solução por 30 segundos e, após secar em temperatura ambiente, três discos foram transferidos para uma placa-de-petri (10 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura) contendo um disco de espuma e um disco de papel-filtro umedecidos com água destilada. Algodão umedecido foi colocado ao redor de cada disco de folha de feijão-de-porco para evitar a fuga dos ácaros. Dez fêmeas adultas do ácaro rajado ou do predador foram transferidas para cada disco de folha, totalizando 30 ácaros por repetição.

A mortalidade para ambas as espécies foi determinada após 24 h de exposição e os ácaros considerados mortos quando, após um leve toque com a extremidade de um pincel de cerdas finas (número 00), foram incapazes de se deslocar por uma distância superior ao comprimento do seu corpo. Todos os tratamentos foram repetidos três vezes, totalizando 90 ácaros por tratamento. Os dados obtidos para a mortalidade de *T. urticae* foram submetidos à análise de Probit e as concentrações que matam 50% da população ( $CL_{50s}$ ) estimadas através do programa POLO - PC (LeOra 1987).

O método de Robertson *et al.* (2007) foi utilizada para o cálculo das razões de toxicidade, com seus respectivos intervalos de confiança a 95%, sendo considerada significativa quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0. O teste T foi utilizado para comparação do número

de ácaros predadores e o número de *T. urticae* mortos na mesma concentração, através do programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

Todos os resultados de mortalidade obtidos para *N. californicus* foram classificados de acordo com os critérios da IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control) para testes realizados em condições de laboratório com organismos benéficos (Degrande *et al.* 2002, Efrom *et al.* 2012) como: classe 1 = inofensivo (mortalidade < 30%); classe 2 = pouco prejudicial (mortalidade 30-79%); classe 3 = moderadamente prejudicial (mortalidade 80-99%); e classe 4 = prejudicial (mortalidade > 99%).

### **Obtenção dos Índices de Efeito Fracional dos Óleos Essenciais sobre *Tetranychus urticae*.**

Com o objetivo de se verificar o tipo de interação entre os óleos presentes nas misturas binárias em diferentes proporções foram calculados os índices de efeito fracional (IEF) através da fórmula proposta por Houghton (2009), descrita abaixo, usando as CL<sub>50</sub> estimadas previamente por outros autores para os óleos de *Piper*, *Melaleuca* e frutos verdes e maduros de *Schinus* (Tabela 2) pelos métodos de fumigação e efeito residual.

IEF = Efeito Fracional<sub>a</sub> + Efeito Fracional<sub>b</sub>, onde:

$$\text{Efeito Fracional}_a = \text{CL}_{50 \text{ mistura}} / \text{CL}_{50 a}$$

$$\text{Efeito Fracional}_b = \text{CL}_{50 \text{ mistura}} / \text{CL}_{50 b}$$

Os resultados foram interpretados como sinergista (IEF < 0,5), aditivo (0,5 ≤ IEF ≤ 1,0), indiferente (1,0 < IEF ≤ 4,0) ou antagonista (IEF > 4,0) de acordo com Bassolé *et al.* (2010).

**Bioensaios de Fumigação e Efeito Residual sobre a Fecundidade de *Tetranychus urticae*.** As metodologias utilizadas para verificar se houve deterrência de oviposição em *T. urticae* foram as mesmas descritas anteriormente para os testes de fumigação e de efeito residual, com modificações. Cinco discos de folha de feijão-de-porco com 1,5cm de diâmetro foram colocados de forma equidistante em uma placa-de-petri de 8cm de diâmetro contendo um disco de papel-

filtro saturado com água destilada para manter a turgidez das folhas e evitar a fuga dos ácaros. Uma fêmea adulta de *T. urticae* foi transferida para cada disco de folha e cada placa-de-petri colocada em uma câmara de fumigação, totalizando cinco ácaros por câmara.

Os óleos essenciais puros ou suas misturas foram aplicados com o auxílio de pipetas automáticas em tiras de papel-filtro (10 x 2 cm) presas à superfície interna da tampa da câmara de fumigação. Para os testes de efeito residual, após a imersão dos discos de folha nas soluções contendo os óleos essenciais ou suas misturas binárias, a metodologia utilizada foi a mesma descrita anteriormente, na qual uma fêmea adulta de *T. urticae* foi transferida para cada disco de folha (1,5cm). O número de ovos foi contado após 24 h de exposição.

A concentração utilizada no teste de fecundidade através de fumigação foi a CL<sub>25</sub> estimada para o eugenol (0,001 µL/L de ar) nos bioensaios de toxicidade fumigante. Para os testes de fecundidade por efeito residual, a concentração utilizada foi a CL<sub>25</sub> estimada para o acaricida sintético Vertimec<sup>®</sup> 18 EC (0,0001 µL/mL) nos bioensaios de toxicidade residual.

Para cada concentração foram utilizadas 10 repetições, totalizando 50 ácaros por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) no programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

**Bioensaios de Contato sobre *Tetranychus urticae* em Casa de Vegetação.** A técnica de Miresmailli & Isman (2006) foi adaptada para a realização dos testes de contato dos óleos essenciais em *T. urticae* em condições de casa de vegetação. Neste experimento apenas os óleos essenciais puros e as misturas que obtiveram efeitos aditivo ou sinergista nos testes de efeito residual em laboratório foram investigados. Foram utilizadas plantas de feijão-de-porco com duas folhas e 25 dias de idade. Quinze fêmeas adultas do ácaro rajado foram transferidas para cada folha, totalizando 30 ácaros por planta. Após 72 h, 5mL de cada solução foi pulverizado sobre os

ácaros em cada planta. As soluções foram preparadas a 1% do óleo essencial ou suas misturas binárias em água destilada contendo 0,1% de dispersante Tween 20.

O acaricida sintético Vertimec<sup>®</sup> 18 EC, usado como controle positivo, foi pulverizado na mesma concentração utilizada para os óleos essenciais (1%). As plantas consideradas controle foram tratadas apenas com água destilada e dispersante. Foram realizadas três repetições, sendo cada repetição uma planta de feijão-de-porco contendo 30 ácaros, totalizando 90 ácaros por tratamento. Após 24, 48 e 72 h das pulverizações, as avaliações foram realizadas por meio da contagem do número de ácaros vivos e mortos, com o auxílio de uma lupa manual. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade no programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

## **Resultados e Discussão**

**Efeito dos Óleos Essenciais de *Piper aduncum*, *Schinus terebinthifolius* e *Melaleuca leucadendron* e suas Misturas sobre *Tetranychus urticae* e *Neoseiulus californicus* em Escala Laboratorial e em Casa de Vegetação.** Estudos prévios sobre a toxicidade por fumigação e efeito residual dos óleos das folhas de *P. aduncum* (PA) e *M. leucadendron* (ML) e dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *S. terebinthifolius* sobre *T. urticae* (Tabela 2) revelaram que esses óleos são fontes de substâncias ativas que podem servir de modelos para formulação de um acaricida botânico. Porém, nenhum estudo de viabilidade desses óleos foi realizado, objetivando aprofundar as propriedades acaricidas sobre *T. urticae* visando seu uso como princípio ativo em novas formulações.

Dessa forma, o foco desse trabalho foi investigar outras propriedades acaricidas desses óleos, especificamente sobre três aspectos: (1) fecundidade do ácaro rajado por fumigação e efeito residual; (2) seletividade desses óleos para o inimigo natural; e (3) eficácia e/ou reprodutividade

da atividade realizada em laboratório em escala de campo. Os resultados obtidos foram comparados com os controles positivos, eugenol para fumigação e Vertimec<sup>®</sup> 18 EC para testes de efeito residual.

**Ação dos Óleos Essenciais sobre a Fecundidade de *Tetranychus urticae*.** A ação dos óleos sobre a fecundidade de *T. urticae* variou com o tipo de óleo e método utilizado. Na fumigação, entre os óleos objeto de estudo, apenas *Melaleuca* e *Piper* atuaram reduzindo o número de ovos significativamente com relação à testemunha (Fig. 1). Entretanto, nos testes de efeito residual, nenhum óleo reduziu a oviposição de *T. urticae*. Ao contrário, o óleo de frutos maduros de *Schinus* induziu a oviposição dos ácaros, sugerindo que este óleo, em concentrações subletais, promove hormese. Entre os controles positivos, apenas eugenol reduziu significativamente o número de ovos com relação à testemunha, enquanto Vertimec<sup>®</sup> 18 EC não atuou sobre a fecundidade (Fig. 1).

Há vários relatos na literatura confirmando que óleos essenciais, além de atuarem como acaricidas, também modificam o comportamento do ácaro rajado. Através de pulverização, óleos essenciais das partes aéreas das espécies *Deverra scoparia* Coss. & Durieu (Apiaceae) (Attia *et al.* 2011); *Rosmarinus officinalis* Linnaeus e *Salvia officinalis* Linnaeus (Lamiaceae) (Laborda *et al.* 2013) reduziram significativamente a fecundidade de fêmeas de *T. urticae*. Diferente do obtido no presente estudo, outros trabalhos reportaram que fêmeas de *T. urticae* reduziram a quantidade de ovos postos quando submetidos ao óleo de *Santalum austrocaledonicum* Vieill. (Santalaceae) (Roh *et al.* 2011), e folhas de *Mentha pulegium* L. (Lamiaceae) (Mozaffari *et al.* 2013) em testes de efeito residual.

Estes resultados indicam que concentrações subletais de óleos essenciais nem sempre são capazes de reduzir o número de ovos postos por fêmeas de *T. urticae*. No entanto, através de

fumigação, esses óleos essenciais, além de serem tóxicos ao ácaro rajado, também podem atuar como deterrentes de oviposição.

**Seletividade dos Óleos Essenciais em *Neoseiulus californicus*.** A Figura 2 apresenta os resultados de seletividade dos óleos de *Piper*, *Schinus* e *Melaleuca* sobre o inimigo natural do ácaro rajado, *N. californicus* em testes de fumigação e efeito residual. Quando comparadas as atividades dos vapores dos óleos essenciais puros sobre *N. californicus* e *T. urticae*, todos os óleos promoveram mortalidades entre 61,10 e 68,90% dos ácaros predadores, independentemente da concentração testada para cada tratamento. Esses resultados diferiram significativamente da alta mortalidade registrada para *T. urticae* (Fig. 2).

De acordo com os critérios adotados pela IOBC/WPRS, que estabelece critérios de seletividade dos acaricidas sobre o inimigo natural de uma determinada praga, os testes de fumigação para os óleos de *Piper*, *Schinus* e *Melaleuca* revelaram que a taxa de mortalidade do predador variou entre 61 a 68,9%, sendo então estes óleos classificados como pouco prejudiciais. O controle positivo usado nesse experimento também se revelou pouco prejudicial, no entanto, a porcentagem de mortalidade de *N. californicus* (36,70%), apesar de estar dentro do limite classificatório estabelecido pela IOBC/WPRS, foi bem inferior comparado com os óleos testados.

Melhores resultados de seletividade dos óleos sobre o predador *N. californicus* foram obtidos nos testes de efeito residual. De acordo com os critérios adotados pela IOBC/WPRS os óleos mais seletivos foram *P. aduncum* e *Schinus* frutos verdes e maduros. Esses óleos tiveram as mesmas classificações da observada para o controle positivo, Vertimec<sup>®</sup> 18 EC, ou seja, foram inofensivos. A porcentagem de mortalidade de *N. californicus* expostos ao óleo de *Schinus* frutos verdes foi de 10,12%; para o de *Schinus* frutos maduros de 15,0% e o de *Piper* 17,8%. Já o controle positivo, Vertimec<sup>®</sup> 18 EC promoveu uma mortalidade de 8,9%. O óleo de *Melaleuca* também foi seletivo ao predador, sendo classificado como pouco prejudicial. A mortalidade

promovida por esse óleo de 57,30% foi muito superior àquelas observadas para os óleos de *Piper* e *Schinus*.

A seletividade de óleos essenciais tem sido observada para vários outros óleos essenciais obtidos de diferentes espécies vegetais. O efeito fumigante de dez óleos essenciais sobre *N. californicus* foi verificado por Han *et al.* (2010). Segundo os autores, entre os óleos investigados, *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) foi o mais seletivo, promovendo uma  $CL_{50}$  de  $72,60\mu\text{g}/\text{cm}^3$ . Comparando este resultado com aqueles encontrados para o ácaro predador no presente estudo por ação residual, os óleos de frutos verdes e maduros de *S. terebinthifolius* ( $20,4\mu\text{L}/\text{mL}$ ) e *P. aduncum* ( $8,0\mu\text{L}/\text{mL}$ ) mataram apenas 10,11; 15,73 e 17,98%, respectivamente. Essas diferenças na toxicidade, reportadas para os óleos investigados por Han *et al.* (2010) e os óleos de *Piper*, *Schinus* e *Melaleuca* são atribuídas às especificidades do perfil químico de cada óleo.

**Ação dos Óleos Essenciais sobre *Tetranychus urticae* em Casa de Vegetação.** Com base nos resultados obtidos até o momento para os óleos de *Piper*, *Schinus* e *Melaleuca*, esses óleos têm relevado potencial para uso em produtos formulados tendo com base esses óleos, puros e/ou em misturas, com resultados significativos atuando na mortalidade e fecundidade do ácaro rajado e considerados seletivos ao inimigo natural, *N. californicus*. Isto posto, novos testes foram realizados com os referidos óleos essenciais, com o intuito de se avaliar sua eficácia em condições de casa de vegetação através de experimentos de contato sobre o ácaro rajado. Os resultados obtidos foram comparados com o Vertimec<sup>®</sup> 18 EC, usado como controle positivo.

A Figura 3 apresenta os resultados obtidos para a toxicidade de contato em casa de vegetação, das soluções aquosas dos óleos de *Piper*, *Schinus* e *Melaleuca* na concentração de 1% sobre o ácaro rajado em diferentes tempos de avaliação (24, 48 e 72h). Os resultados da toxicidade sobre o ácaro rajado, obtidos para as diferentes soluções foram comparados com o controle positivo Vertimec<sup>®</sup> 18 EC.

Os resultados obtidos indicam que a toxicidade de contato das soluções varia com o tipo de óleo e o tempo de exposição. Após 24h, a toxicidade ao ácaro rajado foi mais significativa para os óleos *Piper* e *Melaleuca*, os quais apresentaram o mesmo nível de toxicidade, seguido dos óleos de *Schinus*, que também não diferiram significativamente entre si (Fig. 3).

Tanto em 48h, quanto em 72h, a susceptibilidade do ácaro aumentou e o óleo de *Schinus* (frutos maduros) revelou a mesma toxicidade observada para os óleos de *M. leucadendron* e *P. aduncum*. Apesar dos resultados significativos para os óleos de *Piper*, *Schinus* (frutos maduros) e *Melaleuca*, nenhum desses óleos apresentou nível de toxicidade sobre *T. urticae* igual ou superior ao controle positivo, Vertimec<sup>®</sup> 18 EC (Fig. 3).

A ação de óleos essenciais sobre *T. urticae* em condições de casa de vegetação vem sendo pouco pesquisada por outros autores. Estudos desta natureza foram realizados por Miresmailli & Isman (2006) a partir de diferentes formulações contendo óleo essencial de alecrim (*R. officinalis*). Estes produtos comerciais foram Hexacide, EcoTrol e Sporan, contendo 5; 10 e 17,6% de óleo essencial, respectivamente, os quais promoveram toxicidade entre 55 e 75% após 24h de exposição.

Estes resultados demonstram que estes produtos foram mais tóxicos do que os óleos essenciais avaliados no presente estudo, após o mesmo período de exposição.

Os resultados descritos para a ação dos óleos de *Piper*, *Schinus* e *Melaleuca* em casa de vegetação corroboram a atividade desses óleos em escala laboratorial.

**Ação das Misturas Binárias sobre *Tetranychus urticae*.** Com o intuito de potencializar a ação tóxica desses óleos, novos experimentos através dos testes de fumigação e efeito residual foram realizados em laboratório com soluções preparadas a partir de misturas binárias desses óleos (SV + SM; ML + SM; PA + SV; ML + SV; ML + PA; PA + SM) nas proporções de 50-50%; 75-25% e 25-75%.

Com base no cálculo do índice de efeito fracional que determina a melhor interação binária sobre o ácaro rajado, a mistura que melhor apresentou toxicidade sobre o ácaro rajado foi selecionada para avaliação em casa de vegetação. Os resultados obtidos em laboratório e em casa de vegetação para as misturas binárias descritas acima foram comparados com os controles positivos eugenol, para os testes de fumigação, e Vertimec® 18 EC por efeito residual.

A toxicidade destas misturas binárias em condições de laboratório varia de acordo com o método utilizado, o tipo dos óleos presentes na mistura e suas proporções.

A Tabela 3 apresenta a toxicidade por fumigação das misturas binárias preparadas, em diferentes proporções, com os óleos de *Piper*, *Schinus* e *Melaleuca* sobre o ácaro rajado. Dentre as misturas testadas, as que apresentaram maior toxicidade foram as preparadas com ML + PA e PA + SM, ambas na proporção de 50-50%. No entanto, nenhuma das misturas binárias avaliadas apresentou toxicidade superior ou igual aos respectivos óleos essenciais e o eugenol, usado como controle positivo. Este fato foi corroborado pelos índices de efeito fracional (IEF) (Tabela 4) calculados para estas misturas, os quais determinaram interações antagônicas para as misturas preparadas com os óleos de PA + ML; PA + SM; PA + SV, independente de suas proporções. As misturas binárias que, de acordo com o IEF foram classificadas como indiferentes e, conseqüentemente, as que apresentaram menor susceptibilidade do ácaro rajado foram as preparadas com os óleos de SV + SM em diferentes proporções.

A Tabela 5 mostra os valores das  $CL_{50}$  obtidas para as misturas binárias dos óleos por efeito residual. Os resultados revelaram que todas as combinações foram ativas, porém a toxicidade variou de acordo com os tipos de óleos nas misturas e suas proporções. Com base nos IEF (Tabela 6), observou-se que as misturas binárias resultaram em 9 interações do tipo indiferente e 8 antagônicas, sugerindo que os diferentes constituintes químicos dos óleos pertencentes a estas misturas atuaram diminuindo a atividade dos óleos sobre o ácaro rajado.

Apenas a mistura constituída pelos óleos de ML + SM na proporção de 50-50% apresentou nível de toxicidade maior do que os respectivos óleos essenciais. Ou seja, esta mistura binária foi cerca de 1,6 vezes mais tóxica do que o óleo de *Melaleuca* e 5,2 vezes mais tóxica do que o óleo de *Schinus* frutos maduros. Nenhuma das misturas binárias dos óleos testados apresentou nível de toxicidade igual ou superior ao Vertimec<sup>®</sup> 18 EC, usado como controle positivo.

Em relação aos testes de toxicidade, os resultados obtidos para as misturas binárias preparadas com os óleos de *Piper*, *Schinus* e *Melaleuca* sobre o ácaro rajado, sugerem que estas misturas foram mais tóxicas pelo método de fumigação do que por efeito residual. Ou seja, a toxicidade dos óleos foi significativamente mais eficaz quando os vapores dos óleos atuam pelas vias respiratórias do ácaro do que através da ingestão ou contato pelos tarsos.

Diante dos resultados observados nos testes de toxicidade por fumigação e efeito residual das misturas binárias sobre a redução do número de ovos postos pelas fêmeas, novos experimentos foram preparados com o intuito de confirmar se estas misturas atuariam na fecundidade de *T. urticae*.

Os resultados obtidos indicam que, além de serem tóxicas ao ácaro rajado, as misturas binárias preparadas com os óleos de *Piper*, *Schinus* e *Melaleuca* influenciaram na fecundidade, reduzindo o número de ovos postos, com atividade variando de acordo com o tipo de mistura binária e a proporção entre os óleos (Figs. 4 e 5).

Nos testes de fecundidade pelo método de fumigação, entre as misturas contendo o óleo de frutos maduros de *Schinus*, com exceção de PA + SM (50-50%) e SV + SM (25-75%), todas as demais misturas promoveram redução significativa do número de ovos em relação ao controle. Resultados semelhantes foram obtidos para as misturas binárias preparadas com óleo de *Melaleuca*. Este óleo, quando combinado com os óleos de *P. aduncum* e dos frutos verdes de *S. terebinthifolius*, ambos na proporção 25-75%, não atuaram sobre a fecundidade de *T. urticae* (Fig.

4). Quando comparadas as misturas contendo o óleo de *Piper*, apenas aquelas preparadas com frutos verdes de *Schinus* nas proporções 50-50% e 75-25% e frutos maduros de *Schinus* (50-50%) não interferiram na oviposição das fêmeas (Fig. 4).

Em comparação ao eugenol, as misturas ML + PA, ML + SV, SV + SM e ML + SM na proporção 50-50%, promoveram a mesma atividade do controle positivo, reduzindo significativamente a fecundidade. Resultados diferentes foram obtidos para as misturas na proporção 25-75%. Entre estas, as mais ativas foram PA + SV, PA + SM e ML + SM, as quais atuaram da mesma forma que o eugenol, reduzindo significativamente o número de ovos.

Com exceção de PA + SV, todas as misturas na proporção 75-25% foram consideradas deterrentes, reduzindo significativamente a oviposição de *T. urticae*. No entanto, os óleos de *Piper* e frutos maduros de *Schinus* misturados nesta proporção foram os mais eficientes, reduzindo significativamente o número de ovos em relação às demais misturas e ao eugenol.

Quanto à ação das misturas binárias na fecundidade do ácaro rajado pelo método de efeito residual, considerando apenas as misturas binárias contendo o óleo de *Piper*, nas três proporções testadas, todas promoveram redução significativa do número de ovos. O mesmo foi observado para todas as misturas contendo o óleo de *Melaleuca*. No entanto, entre estas misturas preparadas na proporção 50-50%, ML + PA, PA + SM e ML + SM foram as mais eficientes, reduzindo significativamente a fecundidade. O mesmo foi obtido para a mistura ML + SV (25-75%), a qual foi a mais deterrente em comparação às misturas preparadas na proporção 25-75%.

Entre as misturas preparadas com os óleos de *Schinus*, apenas a mistura dos óleos dos frutos verdes e maduros, na proporção 50-50% não interferiu significativamente na fecundidade quando comparado ao controle. Além disso, entre as misturas em 75-25%, as mais significativas foram ML + SV, SV + SM, ML + PA e PA + SM (Fig. 5).

Em comparação ao acaricida sintético, este não atuou sobre a fecundidade dos ácaros. Quando comparado e efeito do Vertimec<sup>®</sup> 18 EC ao das misturas na proporção 50-50%, ML + PA, PA + SM e ML + SM foram significativamente mais ativas do que o produto sintético. Resultados semelhantes foram observados quando as fêmeas foram submetidas às misturas ML + SV, ML + PA e ML + SM na proporção 25-75%, e às misturas ML + SV, SV + SM, ML + PA e PA + SM na proporção 75-25%, as quais foram mais deterrentes do que o Vertimec<sup>®</sup> 18 EC (Fig. 5).

**Seletividade das Misturas Binárias em *Neoseiulus californicus*.** Considerando que apenas a mistura ML + SM na proporção de 50-50% teve as propriedades acaricidas dos respectivos óleos potencializadas, segundo o IEF (classificada como efeito aditivo), através do teste pela técnica residual, essa formulação foi selecionada para avaliação de sua seletividade contra o inimigo natural, *N. californicus* e eficácia sobre o controle do ácaro rajado em experimentos de contato residual em casa de vegetação. Os resultados obtidos destes testes foram comparados com Vertimec<sup>®</sup> 18 EC, como controle positivo.

A Figura 2 apresenta os percentuais médios de mortalidade obtidos para *N. californicus* submetidos a mistura ML + SM (50-50%) e ao acaricida Vertimec<sup>®</sup> 18 EC por efeito residual. As concentrações utilizadas para a mistura binária e o controle positivo, foram as que promoveram mortalidade de *T. urticae* de 95% nos experimentos de toxicidade em escala laboratorial através do método de efeito residual.

Os resultados obtidos indicam que a mistura ML + SM (50-50%) promoveu 54,44% de mortalidade de *N. californicus*, diferindo significativamente da mortalidade registrada para *T. urticae* (Fig. 2). De acordo com a porcentagem de mortalidade observada para o ácaro predador, segundo os critérios adotados pela IOBC/WPRS esta mistura pode ser considerada pouco

prejudicial, enquanto o controle positivo, Vertimec<sup>®</sup> 18 EC (8,9%) foi inofensivo a *N. californicus*.

**Ação das Misturas Binárias sobre *Tetranychus urticae* em Casa de Vegetação.** A Figura 3 apresenta os resultados da ação acaricida da solução aquosa tendo como princípio ativo a mistura dos óleos essenciais de ML + SM (50-50%) sobre o ácaro rajado em condições de casa de vegetação em diferentes períodos de avaliação.

A toxicidade da solução aquosa preparada com os óleos de *Melaleuca* e *Schinus* frutos maduros aumentou com o passar do tempo. A quantidade de ácaros mortos quando tratados com a solução aquosa após 24 e 48h foi inferior e diferiu significativamente da mortalidade promovida pelo controle positivo no mesmo período de avaliação. No entanto, não houve diferença significativa na toxicidade da solução comparada com a obtida para o controle positivo no último dia de avaliação (72h).

Esses resultados sugerem, que com o passar do tempo, mesmo sendo uma solução constituída com material mais volátil (óleos essenciais), a solução aquosa testada apresentou mesmo nível de atividade do que o acaricida sintético. Provavelmente, a solução desse acaricida botânico tendo como veículo de solubilização um solvente polar (água) com ponto de ebulição alto, reduza o tempo de volatilização dos óleos essenciais.

Com base nos resultados apresentados acima, pode-se concluir que a forte atividade observada para a mistura ML + SM (50-50%) em condições de casa de vegetação indica que esta combinação é bastante promissora para o controle do ácaro rajado. Os testes de seletividade em *N. californicus*, especialmente por efeito residual, também reforçam a afirmação de que misturas de diferentes óleos essenciais podem ser usadas em formulações para o manejo ecológico de *T. urticae*.

**Conclusões.** Os óleos essenciais das folhas de *P. aduncum*, *L. sidoides* e *S. terebinthifolius* e seus constituintes químicos individuais apresentam toxicidade e atuam como deterrentes de alimentação em *P. xylostella*, e a mistura LS + ST (75-25%) promove efeito sinergista através de toxicidade residual sobre este inseto;

As misturas binárias dos óleos essenciais das folhas de *P. aduncum*, *M. leucadendron* e dos frutos verdes e maduros de *S. terebinthifolius* promovem toxicidades fumigante e residual em *T. urticae*, e o efeito da mistura ML + SM (50-50%) através de ação residual sobre esta praga é considerado aditivo. Além disso, as misturas interferem na fecundidade de *T. urticae*, reduzindo sua oviposição e apresentam seletividade em relação a *N. californicus*. Em casa de vegetação, após 72h de exposição, a mistura ML + SM (50-50%) promove a mesma toxicidade de contato em *T. urticae* quando comparada ao acaricida químico sintético;

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que pesquisas desta natureza apresentam grande importância, sendo capazes de revelar novos produtos de maior complexidade química com eficiência superior aquela obtida a partir de óleos essenciais puros para o controle de insetos-praga, confirmando a hipótese de que a atividade de óleos essenciais sobre *P. xylostella* e *T. urticae* pode ser potencializada por meio de misturas binárias destes óleos.

### **Agradecimentos**

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE – Proc. N° IBPG-0984-5.01/10) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Doutorado.

## Literatura Citada

- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários). 2014.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>. Acesso: 12/12/2014.
- Araújo, C.P.Jr., C.A.G. Câmara, I.A. Neves, N.C. Ribeiro, C.A. Gomes, M.M. Moraes & P.S. Botelho. 2010.** Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three *Citrus* species cultivated in NE Brazil. *Nat. Prod. Communic.* 5: 471-476.
- Araújo, M.J.C., C.A.G. Câmara, F.S. Born, M.M. Moraes & C.A. Badji. 2012.** Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its compounds against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 139-155.
- Attia, S., K.L. Grissa, G. Lognay, S. Heuskin, A.C. Maillieux & T. Hance. 2011.** Chemical composition and acaricidal properties of *Deverra scoparia* essential oil (Araliales: Apiaceae) and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 104: 1220-1228.
- Bassolé, I.H.N., A. Lamien-Meda, B. Bayala, S. Tirogo, C. Franz, J. Novak, R.C. Nebié & M.H. Dicko. 2010.** Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Molecules* 15: 7825-7839.
- [DARP]. 2014.** Database of Arthropods Resistance to Pesticides. <http://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=536>
- Degrande, P.E., P.E. Reis, G.A. Carvalho & L.C. Belarmino. 2002.** Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais, p. 71-93. 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, 634p.
- Efrom Houghton, C.F.S., L.R. Redaelli, R.N. Meirelles & C.B. Ourique. 2012.** Side-effects of pesticides used in the organic system of production on *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 55: 47-53.
- Gorman, K., F. Hewitt, I. Denholm & G.J. Devine. 2002.** New developments in insecticide resistance in the glasshouse whitefly (*Trialetrodes vaporariorum*) and the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the UK. *Pest Manag. Sci.* 58: 123-130.
- Han, J., B. Choi, S. Lee, S.I. Kim & Y. Ahn. 2010.** Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and -resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *J. Econ. Entomol.* 103: 1293-1298.
- Houghton, P. 2009.** Synergy and polyvalence: paradigms to explain the activity of herbal products, p. 85-94. In P.K. Mukherjee & P. Houghton (eds.), *Evaluation of herbal medicinal products: Perspectives on quality, safety and efficacy*. London, Pharmaceutical Press, 502p.

- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603-608.
- Laborda, R., I. Manzano, M. Gamón, I. Gavidia, P. Pérez-Bermúdez & R. Boluda. 2013.** Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Ind. Crop Prod.* 48: 106-110.
- LeOra Software. 1987.** POLO - PC: a User's Guide to Probit Logit Analysis. LeOra Software, Berkely, CA.
- Miresmailli, S. & Isman. 2006.** Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. *J. Econ. Entomol.* 99: 2015-2023.
- Miresmailli, S., R. Bradbury & M.B. Isman. 2006.** Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Manage. Sci.* 62: 366-371.
- Monteiro, L.B. 2002.** Criação de ácaros fitófagos e predadores: um caso de produção de *Neoseiulus californicus* por produtores de maçã, p. 351-365. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Côrrea-Ferreira & J.M.S. Bento (eds.), *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores*. São Paulo, Manole, 635p.
- Moraes, G.J. 2001.** O ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) está se tornando um grave problema em diversas culturas. *Cultivar Grandes Culturas* 28. Revista On-line <http://www.grupocultivar.com.br/artigos/artigo.asp?id=634>
- Moraes, G.J. & C.H.W. Flechtmann. 2008.** Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos Editora, 308p.
- Mozaffari, F., H. Abbasipour, A.S. Garjan, A. Saboori & M. Mahmoudvand. 2013.** Toxicity and oviposition deterrence and repellency of *Mentha pulegium* (Lamiaceae) essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae). *TEOP* 16: 575-581.
- Nascimento, A.F., C.A.G. Camara, M.M. Moraes & C.S. Ramos. 2012.** Essential oil composition and acaricidal activity of *Schinus terebinthifolius* from Atlantic Forest of Pernambuco, Brazil against *Tetranychus urticae*. *Nat. Prod. Communic.* 7: 129-132.
- Neves, R.C.S. 2013.** Avaliação do potencial acaricida de óleos essenciais de plantas aromáticas que ocorrem no bioma de Pernambuco sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*). Dissertação de mestrado, UFRPE, Recife, 109p.
- Oliveira, J.V., J.D. Vendramim & M.L. Haddad. 1999.** Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. *Rev. Agric.* 74: 217-224.
- Park, Y. & J. Lee. 2002.** Leaf cell and tissue damage of cucumber caused by twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 95: 952-957.

- Robertson, J.L., N.E. Savin, H.K. Preisler & R.M. Russel. 2007.** Bioassays with arthropods. California, CRC Press, 224p.
- Roh, H.S., E.G. Lim, J. Kim & C.G. Park. 2011.** Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). J. Pest Sci. 84: 495-501.
- SAS Institute. 2002.** SAS user's guide: Statistics, version 9.0, 7th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Silva, M.A., J.R.P. Parra & L.G. Chiavegato. 1985.** Biologia comparada de *Tetranychus urticae* em cultivares de algodoeiro. Pesq. Agropec. Bras. 20: 741-748.
- Stumpf, N. & R. Nauen. 2001.** Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). J. Econ. Entomol. 94: 1577-1583.
- Vassiliou, V.A. & P. Kitsis. 2013.** Acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) populations from Cyprus. J. Econ. Entomol. 106: 1848-1854.

Tabela 1. Espécies vegetais selecionadas para obtenção dos óleos essenciais.

Espécie	Família	Partes da planta	Nome vulgar	Local de coleta	Nº da exsicata
<i>Piper aduncum</i> L.	Piperaceae	Folhas	Pimenta de macaco	Campus da UFRPE / Pernambuco	HST 18177
<i>Melaleuca leucadendron</i> L.	Myrtaceae	Folhas	Árvore-do-chá	Mata de Dois Irmãos / Pernambuco	48489
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Anacardiaceae	Frutos verdes/Frutos maduros	Aroeira	Campus da UFRPE / Pernambuco	42544

Tabela 2. Atividade fumigante e residual dos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* (PA) e *Melaleuca leucadendron* (ML) e dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius* em *Tetranychus urticae* obtidos da literatura.

Óleo	Fumigação	Residual	Referência
	CL <sub>50</sub> (µL/L ar) (IC 95%)	CL <sub>50</sub> (µL/mL) (IC 95%)	
PA	0,01 (7x10 <sup>-3</sup> -1,3x10 <sup>-2</sup> )	7,17 (5,01-9,77)	Araújo <i>et al.</i> (2012)
ML	0,22 (0,17-0,28)	11,04 (7,05-15,00)	Neves (2013)
SV	1,46 (1,16-1,78)	36,53 (32,80-40,07)	Nascimento <i>et al.</i> (2012)
SM	6,71 (6,23-7,17)	35,80 (32,00-39,72)	Nascimento <i>et al.</i> (2012)

Tabela 3. Atividade fumigante das misturas binárias dos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) (PA) e *Melaleuca leucadendron* L. (Myrtaceae) (ML), dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e do controle positivo, eugenol, em *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae).

Misturas binárias	n <sup>1</sup>	GL <sup>2</sup>	Inclinação ± EP <sub>3</sub>	χ <sup>2</sup> <sup>4</sup>	CL <sub>50</sub> (μL/L de ar) (IC 95%)	RT <sub>50</sub> <sup>5*</sup> (I.C. 95%)
Eugenol	540	3	0,89±0,081	2,96	0,003 a (0,002-0,005)	-
ML + PA (50-50)	630	4	1,27±0,10	3,20	0,15 b (0,11-0,20)	51,19* (30,21-86,74)
PA + SM (50-50)	625	4	1,70±0,15	3,92	0,23 b (0,18-0,28)	76,04* (45,87-126,04)
PA + SM (75-25)	627	4	3,46±0,35	3,07	0,40 c (0,35-0,44)	133,77* (84,12-212,73)
PA + SV (75-25)	625	4	3,50±0,34	3,78	0,43 cd (0,38-0,48)	145,34* (91,39-231,13)
PA + SV (50-50)	625	4	3,04±0,30	2,68	0,46 cd (0,40-0,52)	154,62* (96,86-246,83)
ML + PA (75-25)	533	3	5,23±0,55	2,86	0,53 de (0,48-0,57)	177,39* (112,41-279,93)
ML + PA (25-75)	536	3	3,76±0,39	2,89	0,61 e (0,54-0,68)	207,96* (130,71-330,87)
PA + SV (25-75)	536	3	4,36±0,48	2,67	1,01 f (0,91-1,11)	340,94* (215,25-540,01)
ML + SM (50-50)	626	4	3,07±0,35	3,71	1,40 g (1,17-1,60)	472,79* (294,48-758,81)
PA + SM (25-75)	628	4	4,67±0,48	3,68	1,52 g (1,39-1,64)	512,98* (324,82-810,15)
ML + SV (75-25)	721	5	5,26±0,52	4,93	1,57 g (1,45-1,67)	527,24* (334,55-830,90)
ML + SM (25-75)	536	3	2,68±0,30	2,70	1,77 gh (1,47-2,06)	594,78* (368,05-961,19)
ML + SV (25-75)	534	3	2,78±0,30	2,58	1,78 gh (1,49-2,06)	602,40* (373,52-971,54)
ML + SM (75-25)	540	3	4,01±0,45	2,71	1,82 gh (1,60-2,01)	613,89* (386,42-975,27)
ML + SV (50-50)	628	4	3,51±0,38	3,70	2,05 h (1,79-2,29)	694,19* (436,21-1104,75)
SV + SM (50-50)	624	4	2,80±0,27	3,31	3,34 i (2,88-3,80)	1130,03* (706,97-1806,25)
SV + SM (75-25)	539	3	8,41±0,91	2,92	3,53 i (3,34-3,70)	1191,92* (757,64-1875,14)
SV + SM (25-75)	535	3	4,21±0,43	2,85	3,57 i (3,17-3,93)	1206,52* (757,67-1921,28)

<sup>1</sup>Número total de ácaros.

<sup>2</sup>Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado.

<sup>3</sup>Erro-padrão da média.

<sup>4</sup>Valor do qui-quadrado (P > 0,05).

<sup>5</sup>Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson *et al.* (2007). \*Razão de toxicidade significativa a 5% quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0.

Tabela 4. Índice de efeito fracional (IEF) e interação entre os óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) (PA) e *Melaleuca leucadendron* L. (Myrtaceae) (ML) e dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) através de fumigação sobre *Tetranychus urticae*.

Misturas	IEF	Interação
ML + PA (50-50)	15,68	Antagonista
ML + PA (25-75)	63,77	Antagonista
ML + PA (75-25)	55,41	Antagonista
ML + SV (50-50)	10,72	Antagonista
ML + SV (25-75)	9,31	Antagonista
ML + SV (75-25)	8,21	Antagonista
ML + SM (50-50)	6,57	Antagonista
ML + SM (25-75)	8,31	Antagonista
ML + SM (75-25)	8,54	Antagonista
SV + SM (50-50)	2,79	Indiferente
SV + SM (25-75)	2,98	Indiferente
SV + SM (75-25)	2,94	Indiferente
PA + SV (50-50)	46,32	Antagonista
PA + SV (25-75)	101,69	Antagonista
PA + SV (75-25)	43,29	Antagonista
PA + SM (50-50)	23,03	Antagonista
PA + SM (25-75)	152,23	Antagonista
PA + SM (75-25)	40,06	Antagonista

Tabela 5. Atividade residual das misturas binárias dos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) (PA) e *Melaleuca leucadendron* L. (Myrtaceae) (ML), dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) e do controle positivo, Vertimec® 18 EC, em *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae).

Misturas binárias	n <sup>1</sup>	GL <sup>2</sup>	Inclinação ± EP <sup>3</sup>	χ <sup>2</sup> <sup>4</sup>	CL <sub>50</sub> (μL/mL) (IC 95%)	RT <sub>50</sub> <sup>5*</sup> (I.C. 95%)
Vertimec® 18 EC	629	4	1,13±0,09	3,94	0,0006 a (0,0004-0,0008)	-
ML + SM (50-50)	621	4	1,65±0,16	3,12	6,95 b (5,33-8,69)	10672,47* (7196,77-15826,77)
ML + PA (25-75)	626	4	4,59±0,38	3,14	12,23 c (11,29-13,16)	18749,37* (13753,21-25560,50)
ML + PA (75-25)	531	3	4,00±0,33	2,42	12,26 cd (11,17-13,44)	18872,99* (13536,67-26312,95)
PA + SV (75-25)	628	4	1,97±0,18	3,22	14,92 cde (12,21-17,78)	22825,99* (15875,21-32820,09)
ML + SM (75-25)	539	3	2,69±0,29	2,43	15,87 de (13,37-18,33)	24354,78* (16485,66-35980,07)
ML + SV (75-25)	536	3	3,81±0,41	0,93	17,52 e (15,57-19,41)	26911,33* (18995,12-38126,63)
ML + SV (50-50)	620	4	3,96±0,40	3,29	22,30 f (19,91-24,49)	34223,59* (24460,97-47882,57)
ML + PA (50-50)	624	4	4,20±0,45	3,83	22,91 fg (20,37-25,15)	35104,64* (25461,88-48399,23)
SV + SM (75-25)	536	3	2,55±0,25	2,80	26,77 fgh (22,25-31,34)	41047,97* (29040,05-58021,11)
PA + SM (75-25)	537	3	3,59±0,30	3,42	28,17 fgh (23,38-33,56)	43083,27* (30535,38-60787,46)
PA + SV (25-75)	627	4	2,52±0,24	3,73	29,58 gh (24,84-34,23)	45505,40* (32136,62-64435,57)
SV + SM (50-50)	618	4	2,94±0,29	3,98	35,97 hi (31,10-40,66)	54987,31* (39038,32-77452,22)
PA + SM (50-50)	535	3	3,72±0,42	2,43	42,41 i (36,77-47,47)	65293,95* (46216,39-92246,50)
PA + SV (50-50)	536	3	4,00±0,36	2,04	43,41 i (38,91-47,80)	67211,67* (47369,60-95365,16)
ML + SM (25-75)	536	3	4,00±0,46	2,90	45,78 i (40,29-50,70)	70794,76* (50670,61-98911,35)
ML + SV (25-75)	534	3	3,63±0,39	2,42	46,02 i (40,56-51,25)	71053,68* (50648,01-99680,63)
SV + SM (25-75)	621	4	2,98±0,28	3,92	62,94 j (54,25-71,34)	96493,58* (71486,29-130248,91)
PA + SM (25-75)	535	3	3,56±0,40	2,79	77,92 j (67,56-87,23)	119203,81* (84506,57-168147,27)

<sup>1</sup>Número total de ácaros

<sup>2</sup>Graus de liberdade para o teste de qui-quadrado

<sup>3</sup>Erro-padrão da média

<sup>4</sup>Valor do qui-quadrado (P > 0,05)

<sup>5</sup>Razão de toxicidade calculada pelo método de Robertson *et al.* (2007). \*Razão de toxicidade significativa a 5% quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1,0.

Tabela 6. Índice de efeito fracional (IEF) e interação entre os óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) (PA) e *Melaleuca leucadendron* L. (Myrtaceae) (ML) e dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) através de efeito residual sobre *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae).

Misturas	IEF	Interação
ML + PA (50-50)	5,27	Antagonista
ML + PA (25-75)	2,81	Indiferente
ML + PA (75-25)	2,82	Indiferente
ML + SV (50-50)	2,63	Indiferente
ML + SV (25-75)	5,43	Antagonista
ML + SV (75-25)	2,07	Indiferente
ML + SM (50-50)	0,82	Aditivo
ML + SM (25-75)	5,43	Antagonista
ML + SM (75-25)	1,88	Indiferente
SV + SM (50-50)	1,99	Indiferente
SV + SM (25-75)	3,48	Indiferente
SV + SM (75-25)	1,48	Indiferente
PA + SV (50-50)	7,24	Antagonista
PA + SV (25-75)	4,94	Antagonista
PA + SV (75-25)	2,49	Indiferente
PA + SM (50-50)	7,10	Antagonista
PA + SM (25-75)	13,04	Antagonista
PA + SM (75-25)	4,72	Antagonista

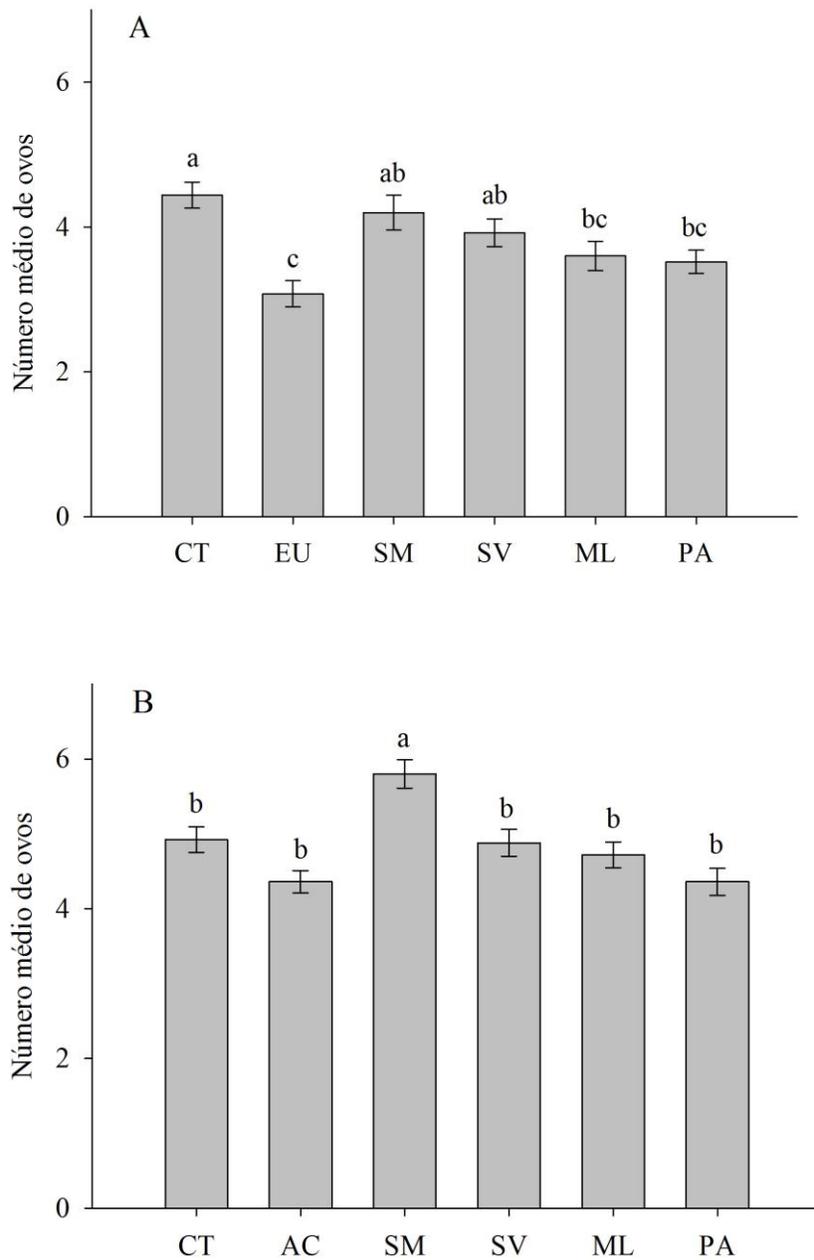


Figura 1. Número médio de ovos postos por fêmea de *Tetranychus urticae* submetida aos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* (PA) e *Melaleuca leucadendron* (ML), dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius*, e dos controles positivos, eugenol (EU) e Vertimec® 18 EC (AC). CT = controle. (A) Fumigação; (B) Residual.

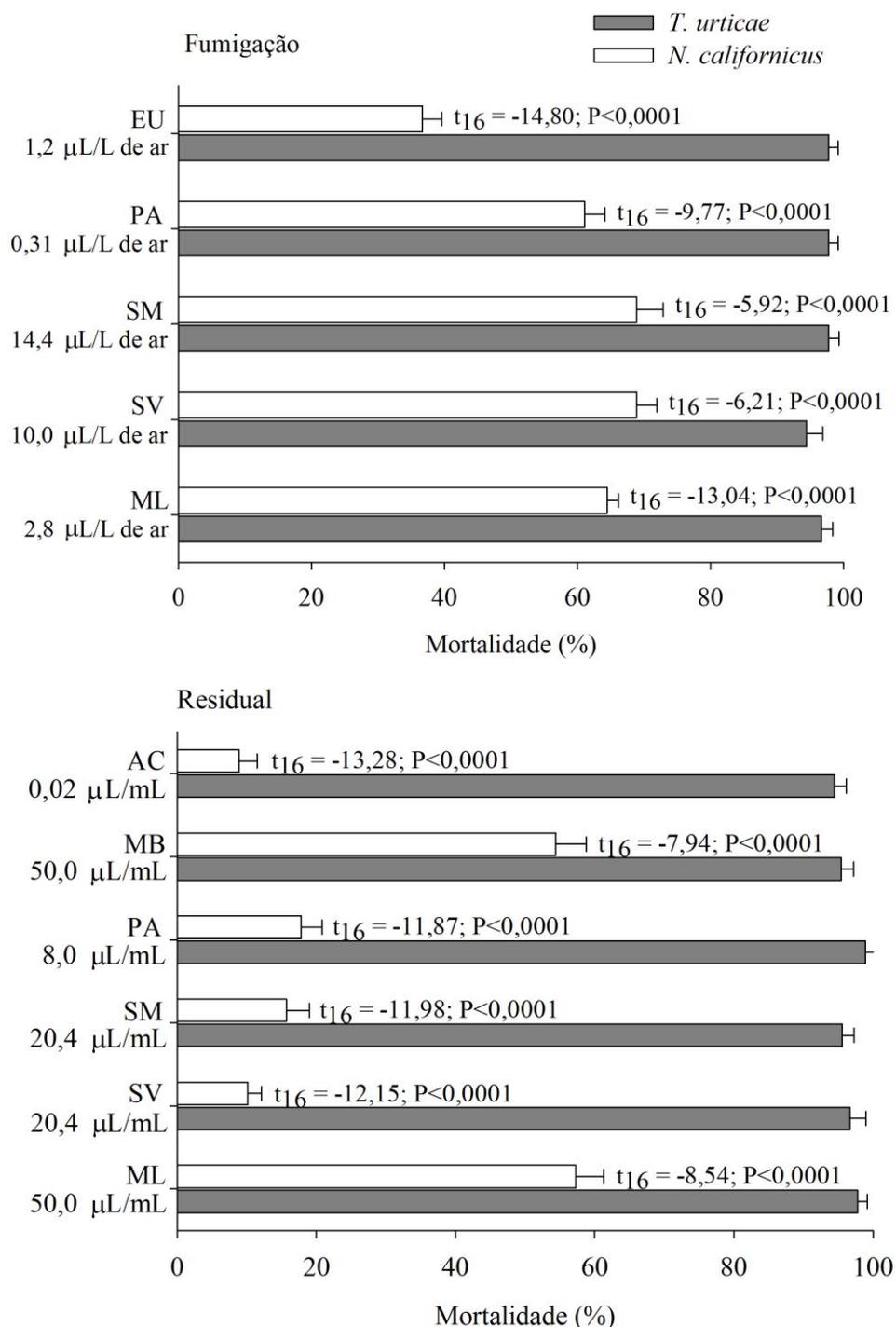


Figura 2. Porcentagem de mortalidade ( $\pm$  EP) promovida pelos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* (PA) e *Melaleuca leucadendron* (ML), dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius*, da mistura binária ML + SM (50-50%) (MB) e dos controles positivos, eugenol (EU) e Vertimec<sup>®</sup> 18 EC (AC), sobre *Neoseiulus californicus*.

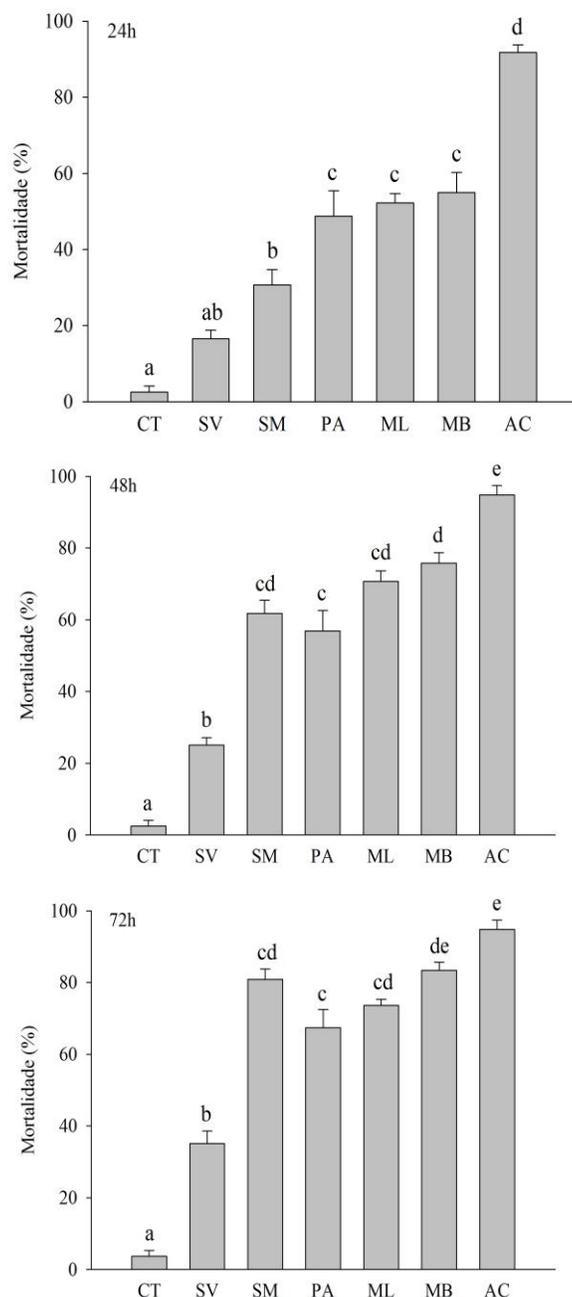


Figura 3. Porcentagem de mortalidade ( $\pm$  EP) promovida pelos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* (PA) e *Melaleuca leucadendron* (ML), dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius*, da mistura binária ML + SM (50-50%) (MB) e pelo acaricida Vertimec<sup>®</sup> 18 EC (AC) sobre *Tetranychus urticae* em casa de vegetação após 24, 48 e 72 h de exposição. Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

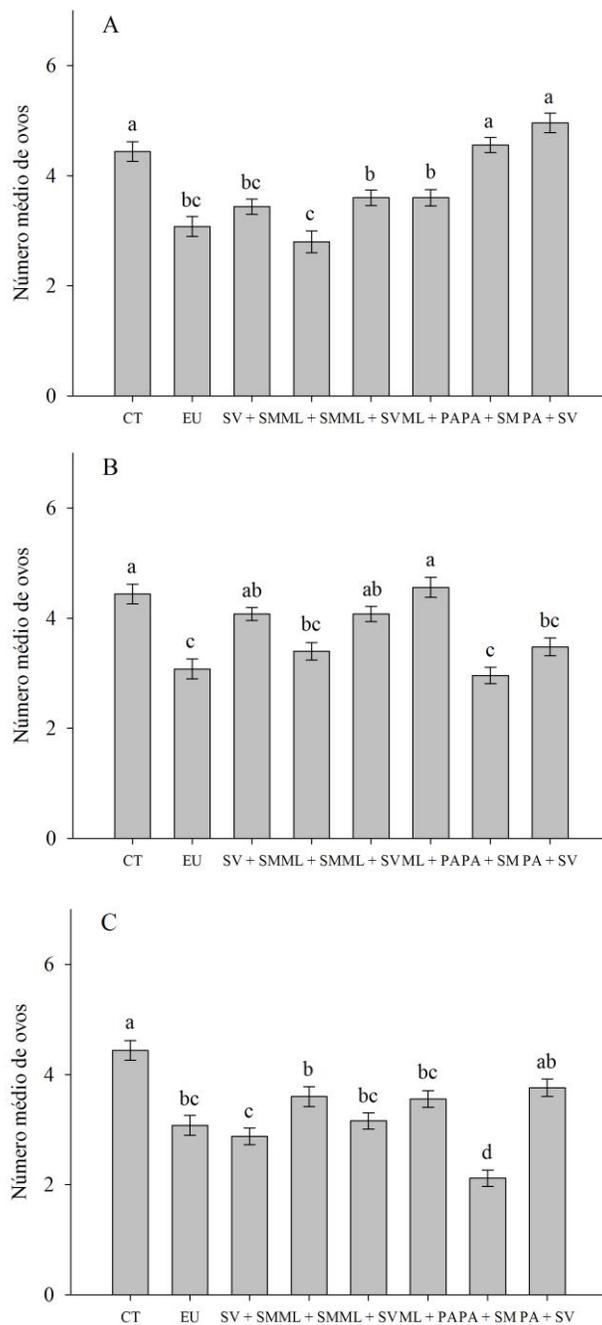


Figura 4. Número médio de ovos postos por fêmea de *Tetranychus urticae* submetida às misturas binárias dos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* (PA) e *Melaleuca leucadendron* (ML), dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius* e ao Eugenol (EU), através de fumigação. (A) Mistura 50-50%; (B) Mistura 25-75%; (C) Mistura 75-25%. Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

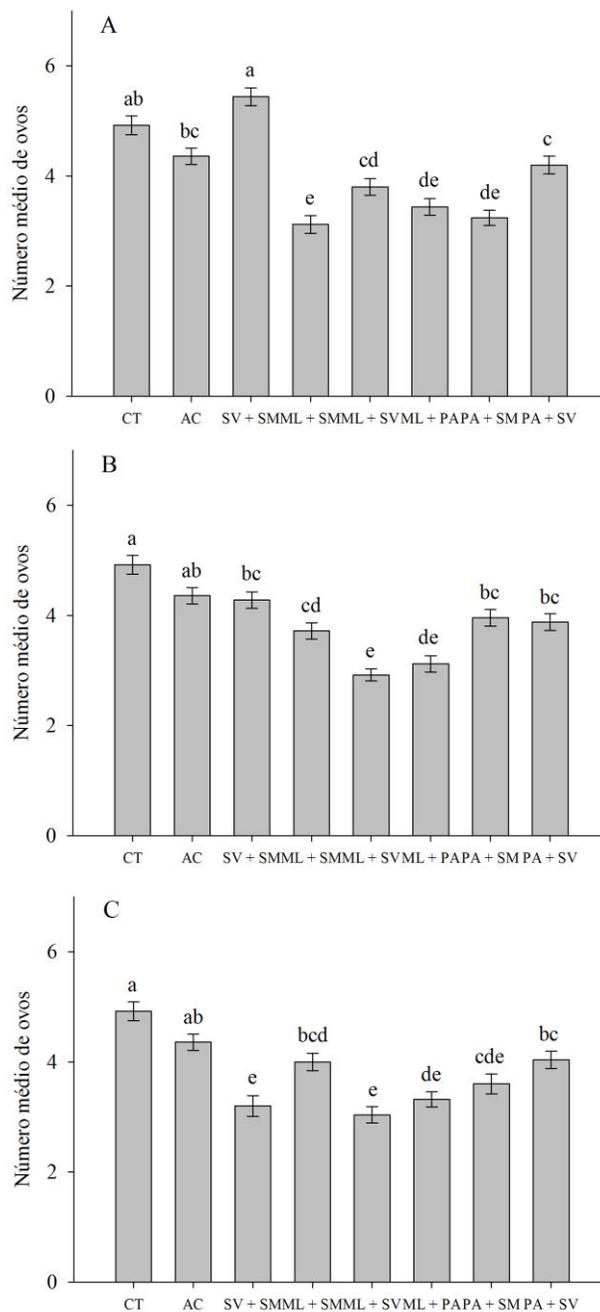


Figura 5. Número médio de ovos postos por fêmea de *Tetranychus urticae* submetida às misturas binárias dos óleos essenciais das folhas de *Piper aduncum* (PA) e *Melaleuca leucadendron* (ML), dos frutos verdes (SV) e maduros (SM) de *Schinus terebinthifolius* e ao acaricida sintético Vertimec<sup>®</sup> 18 EC (AC) através de efeito residual. (A) Mistura 50-50%; (B) Mistura 25-75%; (C) Mistura 75-25%. Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

## **CAPÍTULO 4**

### **Pedido de depósito de patente**

PRODUTO A BASE DE UMA MISTURA NATURAL CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS  
COM EFEITOS SINÉRGICOS E ADITIVOS PARA O CONTROLE DE PRAGAS  
AGRÍCOLAS<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>Depósito de pedido de patente realizado junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) em 08/07/2015.

Número do depósito de patente: BR 10 2015 016422 0

Data do depósito: 08/07/2015

Depositante: Universidade Federal Rural de Pernambuco

Inventores: Mário Jorge Cerqueira de Araújo, Cláudio Augusto Gomes da Câmara e Flávia de Souza Born.

Título da Invenção: PRODUTO A BASE DE UMA MISTURA NATURAL CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS COM EFEITOS SINÉRGICOS E ADITIVOS PARA O CONTROLE DE PRAGAS AGRÍCOLAS