



NATHAN JHON SILVA LOPES

**BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS
QUÍMICOS MAJORITÁRIOS PARA O ÁCARO *Oligonychus
ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) E TOXICIDADE
PARA O PREDADOR *Euseius concordis* (Chant, 1959) (Acari:
Phytoseiidae)**

**LAVRAS-MG
2020**

NATHAN JHON SILVA LOPES

**BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS QUÍMICOS
MAJORITÁRIOS PARA O ÁCARO *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari:
Tetranychidae) E TOXICIDADE PARA O PREDADOR *Euseius concordis* (Chant,
1959) (Acari: Phytoseiidae)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, área de concentração
em ENTOMOLOGIA, para a
obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Geraldo Andrade Carvalho
Orientador

Profa. Dra. Dejane Santos Alves
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Jhon-Lopes, Nathan.

Bioatividade de óleos essenciais e compostos químicos majoritários para o ácaro *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) e toxicidade para o predador *Euseius concordis* (Chant, 1959) (Acari: Phytoseiidae)/Nathan Jhon Silva Lopes. - 2020.

62 p. : il.

Orientador: Geraldo Andrade Carvalho.

Coorientadora: DeJane Santos Alves.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. *Oligonychus ilicis*. 2. Óleos essenciais. 3. MIP . I. Geraldo Andrade Carvalho. II. DeJane Santos Alves. III. Título.

NATHAN JHON SILVA LOPES

**BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS QUÍMICOS
MAJORITÁRIOS PARA O ÁCARO *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari:
Tetranychidae) E TOXICIDADE PARA O PREDADOR *Euseius concordis* (Chant,
1959) (Acari: Phytoseiidae)**

**BIOACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AND MAJORITARY CHEMICALS FOR THE
MITE *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) AND TOXICITY TO
THE PREDATOR *Euseius concordis* (Chant, 1959) (Acari: Phytoseiidae)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, área de concentração
em ENTOMOLOGIA, para a
obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 07 de fevereiro de 2020.
Dr. Geraldo Andrade Carvalho - UFLA
Dra. Lívia Maria Silva Ataíde - UFLA
Dra. Giselle Christiane de Souza Pimentel - Externo
Dra. Patrícia de Pádua Marafeli - Externo

Prof: Dr. Geraldo Andrade Carvalho
Orientador

Profa: Dra. Dejjane Alves Santos
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2020**

À ciência

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para eu ser o que sou hoje.

À minha família por se a minha base, do amor e da humildade.

Ao CNPq, DEN - UFLA e EPAMIG EcoCentro pelo apoio financeiro e infraestrutura.

Ao meu orientador Geraldo Carvalho e minha coorientadora DeJane pelo conhecimento e colaboração.

Aos meus amigos e colegas de trabalho pela grande caminhada e parceria.

Aos meus guias e mentores espirituais que me fazem perceber o sentido da vida.

À Deus pela oportunidade e experiência de viver e ser feliz.

RESUMO

Entre os organismos que são considerados pragas do cafeeiro, destacam-se os ácaros, sendo o principal o ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae). Esse artrópode está presente nas principais regiões produtoras de café do Brasil, como os estados de Minas Gerais, São Paulo e principalmente na região do estado do Espírito Santo, principal estado produtor do café Conilon. O ataque desse ácaros geralmente ocorre em reboleira, podendo atingir toda a lavoura. Existem inimigos naturais associados à essa praga, como o ácaro *Euseius concordis* (Chant, 1959) (Acari: Phytoseiidae) porém, o controle químico, com o uso de acaricidas sintéticos, vem sendo o método mais utilizado para o controle. No entanto, pesticidas sintéticos podem provocar impactos negativos ao ambiente e ao homem se utilizados de maneira incorreta, e por isso, são necessárias pesquisas que visem obter outras medidas de controle mais eficazes e com menor impacto ambiental. Visando minimizar os efeitos indesejáveis dos pesticidas sintéticos, o controle de pragas com óleos de origem vegetal vem se constituindo uma alternativa promissora, de baixo custo e segura para os aplicadores e consumidores. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a bioatividade de óleos essenciais provenientes de plantas das famílias Lauraceae, Lamiaceae, Myrtaceae e Rutaceae para ácaro fitófago *O. ilicis*; eleger os óleos essenciais mais promissores e caracteriza-los quimicamente através de CG-EM e avaliar os efeitos dos óleos essenciais e compostos majoritários sobre o ácaro predador *E. concordis*. Foi testado inicialmente todos os óleos na concentração de 10 mg/ml, na repelência houve um destaque nos óleos do gênero *Citrus* spp. enquanto na aplicação tópica os óleos promissores foram os de *Cinnamomum cassia* (canela) e de *Thymus vulgaris* (tomilho), seus componentes químicos majoritários foram o cinamaldeído <E> e orto-cimeno/carvacrol respectivamente. As concentrações letais mostram que o óleo de *T. vulgaris* (CL₅₀ = 3,2 mg/ml) foi mais tóxico do que o óleo de *C. cassia* (CL₅₀ = 4,9 mg/ml), e em parâmetros extras: toxicidade residual, efeito ovicida, toxicidade fumigante e em imaturos esses óleos também se mostraram efetivos. Os ensaios de toxicidade mostraram que o composto cinamaldeído <E> foi o responsável pela atividade acaricida do óleo de *C. cassia*, já o composto carvacrol não teve desempenho acaricida, sugerindo que exista sinergismo entre os componentes do óleo de *T. vulgaris* para que ocorra a toxicidade. Os óleos essenciais de *C. cassia* e *T. vulgaris* e os compostos majoritários testados não foram seletivos ao ácaro predador *E. concordis*, sugerindo assim que técnicas de manejo sejam estudadas e implementadas para o controle adequado da praga sem afetar o organismo não-alvo, assim como estudos futuros devem focar no modo de ação dessas substâncias para contribuir com o manejo integrado de pragas do cafeeiro.

Palavras-chave: Cafeeiro. Artrópodes pragas. Inimigo natural. Óleo essencial. Controle e seletividade.

ABSTRACT

Among the organisms that are considered coffee pests, the most important are the mites, the main one is the coffee mite *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae). This arthropod is present in the main coffee producing regions of Brazil, such as the states of Minas Gerais, São Paulo and mainly in the region of Espírito Santo state, the main producing state of Conilon coffee. The attack of these mites usually occurs in the field, reaching the entire crop. There are natural enemies associated with this pest, such as the mite *Euseius concordis* (Chant, 1959) (Acari: Phytoseiidae), however, chemical control, has been the most used method for control. However, synthetic pesticides can cause negative impacts on the environment and man if used incorrectly, and therefore, research is needed to obtain other more effective control measures with less environmental impact. In order to minimize the undesirable effects of synthetic pesticides, pest control with plant oils has become a promising, low-cost and safe alternative for users and consumers. Thus, the objective of the present study was to evaluate the bioactivity of essential oils from plants of the Lauraceae, Lamiaceae, Myrtaceae and Rutaceae families for phytophagous mite *O. ilicis*; select the most promising essential oils and characterize them chemically through GC-MS and evaluate the effects of essential oils and major compounds on the predatory mite *E. concordis*. All oils were initially tested at a concentration of 10 mg / ml, in repellency there was a highlight in oils of the genus *Citrus* spp. while in topical application the promising oils were *Cinnamomum cassia* (cinnamon) and *Thymus vulgaris* (thyme), its major chemical components were cinnamaldehyde <E> and ortho-cymene / carvacrol respectively. Lethal concentrations show that *T. vulgaris* oil ($LC_{50} = 3.2$ mg / ml) was more toxic than *C. cassia* oil ($LC_{50} = 4.9$ mg / ml), and in extra parameters: residual toxicity, ovicidal effect, fumigant toxicity and in immature these oils were also effective. The toxicity tests showed that the cinnamaldehyde compound <E> was responsible for the acaricidal activity of the *C. cassia* oil, whereas the carvacrol compound did not have an acaricidal performance, suggesting that there is synergism between the components of the *T. vulgaris* oil for it to occur toxicity. The essential oils of *C. cassia* and *T. vulgaris* and the major compounds tested were not selective to the predatory mite *E. concordis*, thus suggesting that management techniques be studied and implemented for the adequate control of the pest without affecting the non-target organism, as well as future studies should focus on the mode of action of these substances to contribute to the integrated management of coffee pests.

Keywords: Coffee tree. Pest arthropods. Natural enemy. Essential oil. Control and selectivity.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	10
1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Comercialização de óleos essenciais para uso agrícola.....	11
1.2 Seletividade de compostos a inimigos naturais	12
1.3 A cultura do cafeeiro	14
1.4 Ácaro-vermelho-do-cafeeiro (<i>O. ilicis</i>)	15
1.5 O predador <i>E. concordis</i>	16
REFERÊNCIAS	18
SEGUNDA PARTE.....	23
2 ARTIGO	23
2.1 Introdução	25
2.2 Material e métodos	26
2.3 Resultados.....	34
2.4 Discussão	37
REFERÊNCIAS	43
FIGURAS	50
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	55
APÊNDICE.....	62

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A diversidade de substâncias ativas provenientes do metabolismo secundário de plantas tem motivado o desenvolvimento de diversas pesquisas envolvendo extratos, óleos vegetais e óleos essenciais, tendo em vista suas diversificadas atividades biológicas e seu importante papel no processo de desenvolvimento de novos produtos botânicos (SILVA, 2014). Os óleos essenciais e os alcaloides, por exemplo, são o grupo de compostos que possuem um maior número de substâncias biologicamente ativas, dentre os metabólitos secundários sintetizados pelos vegetais. Pode-se mencionar que aproximadamente 60% dos óleos essenciais possuem atividades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas (SANTOS et al., 2010) e mais de 80% mostram algum efeito em artrópodes (SANINI et al., 2017).

Referente ao manejo de pragas e doenças a utilização de óleos essenciais tem sido estudada como alternativa aos pesticidas químicos sintéticos, visando assim a diminuição do uso de tais substâncias e dos problemas relacionados ao seu uso irracional. Óleos essenciais são líquidos oleosos e voláteis que são obtidos de diferentes partes do vegetal. Em literatura observa-se um grande número de trabalhos relacionados ao estudo de óleos essenciais que apresentam comprovada atividade acaricida, inseticida, fungicida e até no controle de plantas espontâneas (MOREIRA et al., 2005; SILVA et al., 2010; MASSAROLLI et al., 2016).

Entre as culturas que se destacam devido sua importância econômica e social destaca-se a cafeicultura. A cafeicultura é uma das práticas agrícolas mais produtivas e competitivas na América Latina, África e Ásia, representando importante fonte de renda para esses países. De acordo com a Companhia Nacional do Abastecimento (CONAB, 2019), é oportuno mais uma vez destacar que, o Brasil é responsável por um terço de toda a produção mundial de café.

Entretanto, entre os fatores que oneram a produção cafeeira destacam-se os ácaros fitófagos. À vista disso, e em função da escassez de informações à respeito do efeito de óleos essenciais sobre ácaros fitófagos na cultura do cafeeiro, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade de óleos essenciais de plantas provenientes das famílias Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae e Rutaceae ao ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* e ao predador *Euseius concordis*, bem como avaliar o perfil metabólico dos óleos essenciais que apresentaram maior toxicidade. Desta forma, os resultados obtidos poderão contribuir para o avanço de técnicas de manejo sustentáveis na cultura cafeeira, bem como

para a formulação de novos produtos botânicos visando o controle de pragas e a possível seletividade aos inimigos naturais.

1.1 Comercialização de óleos essenciais para uso agrícola

Os óleos essenciais de plantas têm uma longa história de utilização na indústria de fragrâncias e aromaterapia, e foi exatamente pelo sucesso nestes ramos que esse mercado foi expandido e atualmente abrange diversos setores. Embora existam relatos de um uso tradicional e histórico de algumas plantas como repelentes e inseticidas, até o final dos anos 90 quase não havia conhecimento sobre a biotividade de materiais provindos de plantas sobre organismos, muito menos comercialização (ISMAN et al., 2011).

Com o passar do tempo, óleos essenciais e vegetais foram ganhando espaço na agricultura, e atualmente pesquisas vêm fomentando o conhecimento relacionado ao controle de artrópodes pragas. Este índice de pesquisas possui um aumento significativo, e um dos motivos para isto é o fato de que nos Estados Unidos a Lei Federal de Inseticidas, Fungicidas e Rodenticidas (FIFRA) reconhece uma disposição através de uma lista “Lista 25b – Produtos Isentos” onde inclui óleos de origem vegetal que são considerados como “Geralmente Seguros”, muitos deles utilizados como aditivos alimentares, e que também podem ser utilizados então, como ingredientes ativos em formulações de pesticidas sem a inspeção e aprovação da Agência de Proteção Ambiental (EPA) (US Environmental Protection Agency, 2019). Os óleos apresentados nesta lista, que inclui também alguns metabólitos secundários como eugenol, geraniol e propionato de 2-fenil, tendem a ser muito explorados com a finalidade de produzir base para inseticidas, fungicidas, e herbicidas. Por serem compostos de origem botânica, são isentos de fiscalização e de todos processos pertinentes ao seu desenvolvimento, economizando à fabricantes milhões de dólares que seriam necessários ao levantamento de dados toxicológicos e anos exigidos para a revisão, inspeção e aprovação pela EPA.

Nesse contexto pode-se destacar a EcoSMART Technologies (EUA), que trata-se de uma empresa com liderança mundial em mercado e produção de pesticidas à base de óleos essenciais e vegetais. A principal estratégia desta empresa é investir não só no controle de pragas agrícolas, mas também em vetores que inferem no comprometimento à saúde pública e

ectoparasitas de animais, e isso só é permitido pelo amplo espectro de ação dos óleos essenciais e vegetais contra os mais diversos artrópodes (ISMAN, 2000).

Vários inseticidas botânicos vêm sendo registrados tendo como base de composição os óleos essenciais e seus compostos. No Canadá, por exemplo, foram registrados dois inseticidas contendo óleo de tomilho e gualtéria, os quais têm como principal composto ativo o salicilato de metila. Na África do Sul foi desenvolvido um inseticida e fungicida contendo 50% do óleo de laranja em sua composição. Seguindo a mesma vertente e na mesma marca, na Europa se é comercializado produtos com até 60% de óleo essencial de *Citrus* onde óleos essenciais do gênero são os únicos permitidos para utilização no continente. A China é um dos países que possui maior quantidade de inseticidas botânicos disponíveis, englobando os compostos eucaliptol (1,8-cineol) provindos de óleos essenciais de plantas do gênero *Eucalyptus* e também com base óleos de cânfora, fungicidas à base de eugenol e carvacrol também podem ser encontrados no país. O óleo essencial de *Eucalyptus* spp. e outras plantas da família Myrtaceae podem ser encontrados em outros países em diferentes formulações para o controle de artrópodes pragas, como por exemplo Índia e Austrália. No Brasil e no restante do continente americano o óleo de alho vem sendo utilizado como ingrediente ativo importante em alguns inseticidas de alta efetividade (PITON et al., 2014; ISMAN, 2015).

Embora os óleos essenciais sejam eficazes quando aplicados instantaneamente, seus efeitos geralmente se dissipam de uma forma rápida (TRONGTOKIT et al., 2005). Esse fato provavelmente está relacionado à sua alta volatilidade, uma propriedade que pode ser melhorada através do desenvolvimento de nanoformulações que são capazes de manter os ingredientes ativos na folha e no inseto por um período maior de tempo, além de aumentar a efetividade destes componentes químicos e diminuir a fitotoxicidade possibilitando assim, uma melhor efetividade em condições de campo (NERIO et al., 2010).

Dado o exposto torna-se evidente o grande potencial para a comercialização de óleos essenciais e pesquisas relacionadas, os quais podem, no contexto do manejo integrado de pragas, oferecer alternativas de controle e compatibilidade entre diferentes métodos, e construir possivelmente agrossistemas ambientalmente viáveis.

1.2 Seletividade de compostos a inimigos naturais

Segundo a FAO (2014) o termo pesticida se refere a qualquer substância ou mistura de substâncias químicas, podendo elas serem naturais, sintéticas ou ingredientes biológicos com

a finalidade de repelir, regular o crescimento ou controlar qualquer praga ou plantas. Atualmente, na agricultura os pesticidas mais utilizados são os herbicidas, inseticidas e fungicidas, seguidos por acaricidas, nematicidas e outros menos utilizados, essa variação nominal varia de acordo com os diferentes grupos de organismos alvo (CARVALHO, 2017).

De uma forma geral os pesticidas podem atuar de forma antagônica em organismos não alvo, podendo afetar direta ou indiretamente sua sobrevivência e/ou desenvolvimento. Caso a atuação dessas substâncias surgirem efeito no organismo alvo, pragas, e não tiverem efeito nos predadores temos então o conceito de seletividade, que nada mais é do que a combinação de toxicidade de um pesticida e a probabilidade de efeito sob o contato, portanto, podendo ocorrer variações significativas entre os diferentes grupos de artrópodes (BROWN, 1989; BOTIAS et al., 2016). As diferentes espécies de artrópodes podem diferir em sua suscetibilidade devido a sensibilidade ao composto, penetração, desintoxicação, e capacidade de excreção, entre outros fatores que podem resultar em toxicidade fisiológica diferencial (WINTERINGHAM, 1969; CROFT, 1990; RANDES & WHITNEY, 2011).

A suscetibilidade diferencial, também denominada seletividade fisiológica a um composto, é utilizada como índice de seletividade e pode ser determinada por meio da comparação dos valores das concentrações letais (CL_{50} e CL_{90}), ou pela comparação de curvas de mortalidade, encontrados para a praga e para o inimigo natural (STANLEY e PREETHA, 2016). Com base nessa seletividade fisiológica, alguns pesticidas são denominados como ecologicamente corretos e de risco reduzido. Um fator interessante que deve ser levado em consideração é o fato de que alguns pesticidas que não mostram seletividade fisiológica em experimentos laboratoriais, podem se tornar seletivos por meio do modo de aplicação no ambiente. Entretanto isso não faz deles um produto ecologicamente correto, mas podem ser funcionalmente iguais aos que são, esse fator é considerado pela literatura como seletividade ecológica, que consiste na manipulação de aplicação ou do ambiente, para atingir o organismo-alvo sem afetar o não alvo, um exemplo clássico é utilizar inseticidas em iscas armadilhas para algumas pragas, onde apenas ela será atraída (KIM et al., 2018). A seletividade pode também ser obtida através da resistência constituída pelo tempo à uma determinada população de insetos que sofrem algum tipo de influência, e que os tornam mais resistentes (RODRIGUES et al., 2013).

Quanto aos óleos essenciais e outros compostos naturais botânicos, devido a sua falta de capacidade de persistência no ambiente, eles tendem a ser compatíveis com a maioria dos agentes de controle biológico, não restringindo apenas à insetos, mas sim como outros artrópodes, fungos e bactérias, além da seguridade em outros organismos como peixes,

animais selvagens e humanos. Em contrapartida, essas substâncias são ditas como menos eficazes comparado a pesticidas convencionais, devido a sua capacidade alta de volatilização em condições ambientais, é exigido taxas de aplicações maiores e mais frequentes, técnicas de manejo adequadas e especificidade na aplicação (MIRESMAILLI, 2006; MAGGI E BENELLI, 2018; PAVELA et al., 2019).

O impacto dos acaricidas sintéticos aos ácaros predadores da família Phytoseiidae já foi relatado (BOZHGANI et al., 2018). No entanto, não há estudos que avaliaram os efeitos dos óleos essenciais e componentes químicos em *O. ilicis* e em seu predador *E. concordis*. Investigando os efeitos de alguns óleos essenciais em *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) e *Neoseiulus Californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) Han et al. (2010) não encontraram diferenças significativa na toxicidade para os ácaros pragas e predadores. Recentemente, Ribeiro et al. (2016) e Born et al. (2018) relataram que o predador *N. californicus* era mais tolerante aos óleos de *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) e *Lippia gracilllis* Schauer (Verbenaceae) do que a praga *T. urticae*.

1.3 A cultura do cafeeiro

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo e o Brasil é o segundo maior consumidor e o primeiro produtor mundial de café. A cafeicultura é uma das práticas agrícolas mais produtivas e competitivas na América Latina, África e Ásia, representando importante fonte de renda para esses países. De acordo com a Companhia Nacional do Abastecimento (CONAB, 2019), é oportuno mais uma vez destacar que, o Brasil é responsável por um terço de toda a produção mundial de café. As regiões cafeeiras se encontram principalmente nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rondônia e São Paulo, sendo que, Minas Gerais destaca-se como maior produtor (31,5 milhões de sacas de arábica e 335,8 mil sacas de conilon) predominando a espécie arábica (*Coffea arabica* L.) com 98,8%. Tem-se observado, desde 2004, um decréscimo da área plantada no Brasil, em torno de 13%, porém, a produção de café de 2004 a 2019 apresentou números crescentes, e é constatado que esse crescimento é resultado de um manejo adequado de pragas e doenças relacionadas à cultura (PEREIRA et al., 2017; CONAB, 2019).

Dentre as pragas que oneram a produção cafeeira o bicho-mineiro do cafeeiro *Leucoptera coffeella* (Guérin- Méneville & Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lynetidae) e a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) são as mais

importantes. Contudo, o ácaro-vermelho-do-cafeeiro *O. ilicis* já foi referido como a segunda praga em importância para o cafeeiro Conillon no estado do Espírito Santo (INSTITUTO BIOLOGICO, 2012).

Visto que, atualmente, o método químico é o mais utilizado no controle de pragas na cultura cafeeira, faz-se necessário o uso de pesticidas seletivos aos predadores que se encontram associados ao cultivo (REIS; ZACARIAS, 2007; SILVA et al., 2010). O controle biológico com o uso de ácaros predadores pertencentes principalmente à família Phytoseiidae para o controle de ácaros-praga em cafeeiro é uma alternativa viável para a sustentabilidade do sistema agrícola, pois possibilita a redução de gastos com acaricidas, proteção do meio ambiente e saúde de todos os envolvidos na cadeia produtiva agrícola (SATO et al., 2016). De acordo com Parra et al. (2002), o controle biológico é de extrema importância em programas de manejo integrado de pragas (MIP), principalmente quando se idealiza uma agricultura mais sustentável. Ácaros predadores, principalmente do gênero *Euseius* spp. são frequentemente encontrados associados a ácaros fitófagos em cafeeiro, assim como em vegetações nativas (FERLA; MORAES, 2002). Na cultura cafeeira o controle biológico aplicado ainda é uma barreira a ser vencida, e por isto a manutenção de ácaros predadores de ocorrência natural por meio do manejo correto da cultura, sombreamentos, manutenção de vegetação nativa, manejo de entrelinhas e incluindo a utilização de produtos fitossanitários seletivos, são de suma importância para a sustentabilidade do sistema agrícola (FREITAS et al., 2006).

1.4 Ácaro-vermelho-do-cafeeiro (*O. ilicis*)

Dentre inúmeras pragas que ocorrem em cultivos de cafeeiro, o ácaro-vermelho-do-cafeeiro *O. ilicis* é o principal ácaro-praga presente na cultura, e pode causar danos econômicos significativos. Embora não seja considerado praga-chave, pode causar sérios danos à cultura, provocando a redução da produção e da qualidade da bebida, quando atinge grande infestação (FRANCO et al., 2009). Esta espécie vive na superfície superior das folhas, que quando atacadas apresentam-se recobertas por uma delicada teia, tecida pelo próprio ácaro, onde aderem detritos e poeira, dando às folhas um aspecto de sujeira (REIS; ZACARIAS, 2007). Para se alimentar na superfície superior das folhas, esse artrópode perfura as células e absorve parte do conteúdo celular. Em consequência, as folhas perdem o brilho natural e tornam-se bronzeadas. O ataque geralmente ocorre em reboleira, mas pode atingir toda a lavoura. Em períodos de seca, com estiagem prolongada, podem causar desfolha das

plantas; já em lavouras novas, ainda em formação, as plantas podem apresentar seu desenvolvimento retardado e comprometer gravemente a produção (REIS; ALVES; SOUZA, 1997; MINEIRO et al., 2008).

Seus ovos possuem a característica de serem avermelhados e arredondados, assim como as larvas que além de diminutas, diferem dos adultos por apresentarem três pares de pernas, enquanto os adultos e ninfas são octópodes. O dimorfismo sexual na espécie é dado pelo tamanho e forma, os machos apresentam a estrutura do idiossoma afinada e pernas mais longas, as fêmeas além de serem consideravelmente maiores, apresentam um formato geral arredondado (REIS; ZACARIAS, 2007). O ciclo total de ovo – adulto é em média de 11,7 dias, para fêmeas e machos, resultando em uma longevidade média de 23,5 dias (FRANCO et al., 2008).

O método mais utilizado para o controle desta praga é o uso de produtos fitossanitários sintéticos, porém, o hábito de permanência deste ácaro na superfície foliar favorece o controle mecânico eventual de sua população através de chuvas prolongadas e extensas (REIS; ZACARIAS, 2007; ABREU et al., 2014). Quanto à eficiência de controle de inseticidas botânicos para a espécie, são escassos os trabalhos, sendo relatado apenas alguns extratos vegetais, como *Annona squamosa* L. (Annonaceae), *Calendula officinalis* L. (Asteraceae), *Coffea arabica* L. (Rubiaceae), *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae), *Nepeta cataria* L. (Lamiaceae) e *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) que foram eficientes no controle por aplicação tópica e efeito residual (POTENZA et al., 2005; CARVALHO et al., 2008).

1.5 O predador *E. concordis*

A família Phytoseiidae é a família de ácaros predadores mais abundante em plantas, e algumas espécies de ácaros do gênero *Euseius* (Phytoseiidae) já foram relatadas como predadoras eficazes, atuando no controle biológico de alguns insetos e ácaros fitófagos em diversos cultivos, sendo até mesmo comercializados por algumas empresas no mundo (CARRILLO et al. 2015). *E. concordis* é uma das espécies deste gênero que mostrou resultados satisfatórios no controle de ácaros fitófagos em algumas culturas (MARQUES et al. 2015). No Brasil, além dos relatos e dos estudos em pomares de citros, essa espécie tem sido encontrada em cafeeiro, variando em número de uma região para outra. O ácaro *E. concordis* tem sido consideravelmente abundante nos cafezais de Minas Gerais e de São

Paulo, também sendo encontrado em vegetação natural que ocorre aos arredores dessa cultura (DEMITE et al. 2014).

A preservação dos inimigos naturais presentes em um cultivo é importante para programas o manejo ecológico de pragas, principalmente à espécies de inimigos naturais que não são estritamente predadoras, e utilizam fontes alimentares de outra vertentes, como pólen, néctar e exsudados de plantas; os ácaros do gênero *Euseius* spp. foram classificados em McMurry et al. (2013) como ácaros predadores generalistas do tipo IV. A busca e capacidade de alimentação não restritiva destes inimigos naturais fazem com que os mesmos se mantenham no ambiente sem a presença de presas, variando sua dinâmica populacional de acordo com a principal fonte energética utilizada (GOLEVA; ZEBITZ 2013).

Os aspectos biológicos deste predador são variáveis e pouco estudados, uma fêmea adulta por exemplo pode consumir durante sua vida uma média de 351 ovos ou 302 formas jovens do ácaro-da-mancha-anular-do-cafeeiro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) (SILVA; SATO; OLIVEIRA, 2012). Quanto à taxa de oviposição, Moraes e Lima (1983) verificaram em condições laboratoriais que a taxa média diária foi de 1,7; 2,1; e 0,05 ovos por fêmeas quando alimentado com *Aculops lycopersici* (Masse) (Acari: Eriophyidae), pólen de mamoneira, *R. communis*, e com *Tetranychus evansi* (Baker & Pritchard) (Acari: Tetranychidae) respectivamente.

Ácaros da família Phytoseiidae apresentam alta capacidade predatória à ácaros fitófagos da família Tetranychidae (FANTINO et al., 2012; FARAZMAND et al. 2012). Para o controle de *O. ilicis*, o predador *E. concordis* se mostrou eficiente em muitos parâmetros de controle, como alto índice de predação de imaturos e adultos e busca pela presa (SILVEIRA et al., 2020). Não se tem relatos da toxicidade de inseticidas botânicos sobre o inimigo natural *E. concordis*.

REFERÊNCIAS

- ABREU, F. A. et al. Influência da precipitação pluvial na abundância de ácaros em cafeeiro. **Coffee Science**, v.9, n.3, p.38-46, 2014.
- BORN F. S., et al. Acaricidal property of the essential oil from *Lippia gracilis* against *Tetranychus urticae* and a natural enemy, *Neoseiulus californicus*, under greenhouse conditions. **Experimental and Applied Acarology**, v. 75, n. 1, p. 491–502, 2018.
- BOTÍAS, C., DAVID, A., HILL, E. M., GOULSON, D., Contamination of wild plants near neonicotinoid seed-treated crops, and implications for non-target insects. **Science of The Total Environment**, n. 566 v. 567, p. 269–278. 2016.
- BOZHGANI N. S. S., KHERADMAND K., TALEBI A. A., The effects of spirotetramat on the demographic parameters of *Neoseiulus californicus* (Phytoseiidae). **Systematic and Applied Acarology**, n.1, v. 23, p. 1952–1964, 2018.
- BROWN, R.A., Pesticides and non-target terrestrial invertebrates: an industrial approach, in: Jepson, P.E. (Ed.), Pesticides and non-target terrestrial invertebrates. **Wimborne, Intercept**, v.1, n.2, p. 19-42, 1989.
- CARRILLO D., MORAES G. J., PEÑA J. P., **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. Progress in biological control. v. 19 p. 328, 2015.
- CARVALHO, F.P., Pesticides, environment, and food safety. **Food and Energy Security**. v.6, n.2, p. 48–60, 2017.
- CARVALHO, T. M. B. et al., Avaliação de extratos vegetais no controle de *Oligonychus ilicis* (Mcgregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) em laboratório. **Coffee Science**, v. 3, n. 2, p. 94-103, 2008.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: café**. Brasília: Conab, v. 5, n. 4. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 04 de dezembro 2019.
- CROFT, B. A., Arthropod biological control agents and pesticides. New York, Wiley & Sons, n. 1, p. 723-729, 1990.
- DA SILVEIRA, E.C., et al. Functional response of *Euseius concordis* feeding on *Oligonychus ilicis* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, 2020.
- DEMITE P. R., MCMURTRY J. A., MORAES G. J. Phytoseiidae database: a website for taxonomic and distributional information on phytoseiid mites (Acari). **Zootaxa** v.3795. n.5, p. 571–577, 2014.
- FANTINO A. A., et al. Consumption rate, functional response and preference of the predaceous mite *Iphiseius degenerans* to *Tetranychus urticae* and *Eutetranychus orientalis*. **Experimental and Applied Acarology**, v.58, n.10, p.133–144, 2012.

FAO,. The International Code of Conduct on Pesticide Management. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, p.37. 2014.

FARAZMAND A, FATHIPOUR Y, KAMALI K., Functional response and mutual interference of *Neoseiulus californicus* and *Typhlodromus bagdasarjani* (Acari: Phytoseiidae) on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **International Journal of Acarology**, v.38, n.5, p.369–376, 2012.

FERLA, J.N.; G.J. MORAES. Ácaros predadores (Acari) em plantas nativas e cultivadas do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** n.12, v.19, p.1011-1031. 2002.

FRANCO, R. A. et al., Dinâmica populacional de *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) em cafeeiro e de fitoseídeos associados a ele. **Coffee Science**, v.3, n.1, p.38-46, 2008.

FRANCO, R.A. et al. Influência da infestação de *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) sobre a taxa de fotossíntese potencial de folhas de cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.2, p.205-210, 2009.

FREITAS, J. D. P. et al. Controle alternativo do ácaro da necrose do coqueiro. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 37, n. 3, p. 314-319, 2006.

GOLEVA I., ZEBITZ C. P. W., Suitability of diferent pollen as alternative food for the predatory mite *Amblyseius swirskii* (Acari, Phytoseiidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.61, p.259–283, 2013.

HAN J., et al. Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and -resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). **Journal of Economic Entomology**, v.103, p.1293–1298, 2010.

INSTITUTO BIOLÓGICO. Sanidade vegetal. Café. Disponível em: <<http://www.biologico.sp.gov.br/cafe.php>>. Acessado 27 Jan de 2020.

ISMAN, M. B. A renaissance for botanical insecticides? **Pest Management Science**, v.71, n.12, p-1587–1590, 2015.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**., v.19, n.13, p. 603–608, 2000.

ISMAN, M. B.; MIRESMAILLI, S.; MACHIAL, C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Reviews** , n.10, p.197–204, 2011.

KIM, S. Y., AHN, H. G., HA, P. J., LIM, U. T., LEED, J. H., Toxicities of 26 pesticides against 10 biological control species. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 21, v. 1, p. 1–8, 2018.

MAGGI F., BENELLI G. Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants as Effective Weapons Against Mosquito Vectors of Public Health Importance. In: Benelli G.,

- Mehlhorn H. (eds) Mosquito-borne Diseases. **Parasitology Research Monographs**, v. 10, p. 69–129, 2018.
- MARQUES C. C. et al. Biologia e tabela de vida do ácaro predador *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae) em pinhão-mansão. **Revista Caatinga**, n.2, v. 28 p.249–255, 2015.
- MASSAROLLI A.; PEREIRA M. J. B.; FOERSTER L. A.; *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae): a promising phytoinsecticide for the control of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomology** n.4, v.13, p.132–140, 2016.
- MCMURTRY J. A., MORAES G. J., FAMAHSOURASSOU N., Revision of the lifestyles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. **Systematic and Applied Acarology**, n.4, v.18, p.297–3208, 2013.
- MINEIRO, J. L. C.; SATO, E. S.; ARTHUR, V. Population dynamics of phytophagous and predaceous mites on coffee in Brazil, with emphasis on *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, n.4, v. 4, p. 277-291, 2008.
- MIRESMAILLI, S.; BRADBURY, R.; ISMAN, M. B. Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. **Pest Management Science.**, n.4, v. 62, p. 366–371, 2006.
- MORAES, G. J.; LIMA, H. C. Biology of *Euseius concordis* (Chant) (Acarina: Phytoseiidae) a predator of tomato russet mite. **Acarologia**, v. 24, n. 3, p. 251-255, 1983.
- MOREIRA M. D.; et al. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: Venzon M, Paula Ju´nior TJ, Pallini A (eds) **Controle alternativo de pragas e doenças**. EPAMIG/CTZM, Viçosa, p. 89–120, 2005.
- NERIO, L.S., OLIVERO-VERBEL, J., STASHENKO, E., Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresource Technology.**, n. 1, v. 100, p. 372–378, 2010.
- PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. São Paulo: **Manole**, 2002.
- PAVELA, R., et al., Microemulsions for delivery of Apiaceae essential oils towards highly effective and eco-friendly mosquito larvicides? **Industrial Crops and Products.**, v.129 p. 631–640, 2019.
- PEREIRA, I. S.; LIMA, K. C. C.; MELO JUNIOR, H. B. Substratos orgânicos na produção de mudas de cafeeiro em tubetes. **Revista de Agricultura Neotropical** n. 1, v. 26, p. 4-17, 2017.
- PITON L. P. et al. Natural insecticide based-leaves extract of *Piper aduncum* (Piperaceae) in the control of stink bug brown soybean. **Ciência Rural** v. 44, n. 11, p. 1915–1920, 2014.

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

RANDS, S. A., WHITNEY, H. M., Field Margins, Foraging Distances and Their Impacts on Nesting Pollinator Success. **PLoS ONE**, v. 6, n. 10, p. 259-271. 2011.

REIS, P. R.; ALVES, E. B.; SOUSA, E. O. Biologia do ácaro-vermelho do cafeeiro *Oligonychus ilicis* (Mc Gregor, 1917). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.21, n.3, p. 260-266, 1997.

REIS, P. R.; ZACARIAS, M. S. **Ácaros em cafeeiro**. Belo Horizonte: EPAMIG. (EPAMIG. Boletim Técnico, 81), p.76, 2007.

RIBEIRO N., DA CAMARA C. A. G., RAMOS C., Toxicity of essential oils of *Piper marginatum* Jacq. against *Tetranychus urticae* Koch and *Neoseiulus californicus* (McGregor). **Chilean journal of agricultural research**, n.1, v.76, p.76-71, 2016.

RODRIGUES, A. R. S., et al. Response of different populations of seven lady beetle species to lambda-cyhalothrin with record of resistance. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 1, n. 96, p. 53–60, 2013.

SANINI, C., MASSAROLLI, A., KRINSKI, D., & BUTNARIU, A. R. Essential oil of spiked pepper, *Piper aduncum* L. (Piperaceae), for the control of caterpillar soybean looper, *Chrysodeixis includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Brazilian Journal of Botany**, n.2, v.40, p.399–404, 2017.

SANTOS, A. C. A. et al. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n.2, v.20, p.154-159, 2010.

SATO, M. E.; et al. Spiromesifen resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): Selection, stability, and monitoring. **Crop Protection**, v.89, p.278-283, 2016.

SILVA, C.B. Avaliação do potencial biológico de óleos essenciais e extratos orgânicos de folhas de *Indigofera suffruticosa*. 148f. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

SILVA, E.A; REIS, P.R; ZACARIAS, M.S; MARAFELI, P.P. Fitoseídeos (Acari: Phytoseiidae) associados a cafezais e fragmentos florestais vizinhos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, n.5, p.1146-1153, 2010.

SILVA, M.Z. da; SATO, M. E.; OLIVEIRA, C.A.L., Toxicidade de agroquímicos ao ácaro-da-leprose dos citros *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) e ao ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Tenuipalpidae, Phytoseiidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, n. 3, v. 79, p.363-370, 2012.

STANLEY, J., PREETHA, G., Pesticide toxicity to arthropod predators: exposure, toxicity and risk assessment methodologies, in: Stanley, J., Preetha, G. (Eds.) *Pesticide toxicity to*

non-target organisms: exposure, toxicity and risk assessment methodologies. **Springer, Dordrecht**, p. 1-98, 2016.

TRONGTOKIT, Y. et al., Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytotherapy Research**. n.4, v.19, p.303–309, 2005.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Active Ingredients Allowed in Minimum Risk Pesticide Products; Disponível em: <<http://www2.epa.gov/minimum-riskpesticides/active-ingredients-allowed-minimum-risk-pesticide-products>> Acessado 20 Dez de 2019.

WINTERINGHAM, F. P. W., Mechanisms of selective insecticidal action. **Annual Review of Entomology** n. 1, v. 14, p. 409-442, 1969.

SEGUNDA PARTE**2 ARTIGO****BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS QUÍMICOS
MAJORITÁRIOS PARA O ÁCARO *Oligonychus ilicis* E TOXICIDADE PARA O
PREDADOR *Euseius concordis***

Nathan Jhon Silva Lopes¹; DeJane Santos Alves²; Marvin Mateo Pec Hernandez¹; Luana Mesak¹; Geraldo Andrade Carvalho^{1*}

¹Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil, Câmpus Universitário, CEP 37200-900

²Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Santa Helena-PR, Brasil, Prolongamento da Rua Cerejeira, s/n, Bairro São Luis, CEP 85892-000

* *Autor correspondente*: Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-900, Telefone (35) 3829- 5128
Email: gacarval@ufla.br

RESUMO

Foi verificada a bioatividade de 13 óleos essenciais contra o ácaro-vermelho-do-cafeeiro, *Oligonychus ilicis*. Os óleos de *Cinnamomum cassia* e *Thymus vulgaris* apresentaram resultados similares ao acaricida registrado para a cultura, abamectina, com 100% de mortalidade após 72h de aplicação. Destaca-se que as concentrações letais medianas (CL₅₀) foram de 4,9 mg/ml e 3,2 mg/ml respectivamente. Além disso, os mesmos óleos tiveram resultados acaricidas satisfatórios em outros métodos de exposição, tais como fumigação, contato residual e atividade ovicida. Através de análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa por (CG-EM) o cinnamaldehyde <E> foi identificado como composto majoritário no óleo de *C. cassia*. Ao passo que no óleo de *T. vulgaris* o orto-cymene e carvacrol foram detectados como componentes majoritários. Quando a substância pura cinnamaldehyde <E> foi submetida ao ensaio com *O. ilicis* a toxicidade foi equivalente ao óleo de *C. cassia*, já para o composto carvacrol, sua toxicidade foi menor do que a detectada ao óleo de *T. vulgaris*, o que sugere que para o óleo de canela a bioatividade seja de responsabilidade do composto majoritário e para o óleo de tomilho exista outras substâncias ativas. Os óleos de *C. cassia*, *T. vulgaris* e os compostos cinnamaldehyde <E> e carvacrol se mostraram tóxicos também ao predador *Euseius concordis*. Assim os óleos provenientes de *C. cassia* e *T. vulgaris* apresentam-se promissores para serem empregados no controle de *O. ilicis*, entretanto não há seletividade ao inimigo natural *E. concordis* sugerindo então, que técnicas de manejo sejam implementadas a fim de não prejudicar o organismo não-alvo.

Palavras-chave: Acaricida botânico, Manejo Integrado de Pragas, Produtos naturais, Seletividade.

2.1- Introdução

O café é uma das commodities agrícolas mais valiosas do mundo, seu valor monetário é superado apenas pelo comércio de petróleo (Rodríguez-López et al. 2013; Mathur et al. 2014). A comercialização mundial do café e toda sua economia se baseia na produção de duas espécies: *Coffea arabica* (Café arábica) e *Coffea canephora* (Robusta); sendo a robusta responsável por 40% da produção de café mundial (Wintgens 2004; USDA 2015). Dentre os fatores que oneram a produção cafeeira destacam-se os artrópodes pragas tais como o ácaro-vermelho-do-cafeeiro, *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), sendo esse o ácaro fitófago mais importante encontrado nessa cultura (Gaitán et al. 2015). *O. ilicis* alimenta-se na superfície foliar, onde ataca inserindo seu aparelho bucal e sugando o conteúdo celular, causando danos às paredes celulares e ao parênquima foliar, com isso as folhas se tornam bronzeadas com aspecto sem brilho, e automaticamente acometendo a taxa fotossintética da planta refletindo diretamente na produção (Reis et al. 1997; Matiello 1998; Moraes and Flechtmann 2008).

Surtos dessas populações são frequentemente relatados devido à sua alta capacidade reprodutiva, mostrando-se capaz de aumentar aproximadamente 20 vezes em cada geração (Fahl et al. 2007). O manejo mais utilizado atualmente para combater essa praga é por meio de acaricidas sintéticos e pela manipulação genética das plantas de café, visto que estes métodos são capazes de selecionar populações resistentes (Caubet et al. 1992; Collatz and Dorn 2013). Faz-se necessário estudos que visem desenvolver outros métodos de controle de baixo impacto ambiental para incrementar o manejo integrado para a cultura do cafeeiro.

Para reduzir os efeitos negativos do controle com pesticidas químicos sintéticos, método mais utilizado atualmente, uma possível solução é o uso de óleos essenciais, que mostram efeitos tóxicos, atrativos, repelentes e reguladores de crescimento em muitos artrópodes (Pitasawat et al. 2007; Park et al. 2012; Kim et al. 2018). Muitos desses óleos essenciais estão prontamente disponíveis para serem utilizados na agricultura, pois tanto os óleos quanto seus constituintes atendem aos critérios de pesticidas de risco reduzido (US EPA 2004). Extratos de plantas como *Eugenia caryophyllata* (Thunberg) (Myrtaceae), *Cinnamomum camphora* L. (Lauraceae) e *Asarum heterotropoides* (F. Schmidt) (Aristolochiaceae) já se mostraram efetivos no controle de alguns artrópodes pragas, como por exemplo o caso do óleo de casca de *Cinnamomum cassia* L. (Lauraceae) e seu composto majoritário cinamaldeído, que se mostrou efetivo em ácaros parasitas (George et al. 2010; Kim et al. 2016). No mesmo sentido o óleo essencial de *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae) que tem propriedades acaricidas de

responsabilidade do seu composto majoritário eugenol, foi testado em várias espécies de Acari, como *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Acari: Acaridae), *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart) (Acari: Pyroglyphidae), *Dermacentor nitens* (Neumann) (Acari: Ixodidae) e *Dermanyssus gallinae* (de Geer) (Acari: Dermanyssidae) (Saad et al. 2006; Zeringóta et al. 2013). Quanto ao gênero *Tetranychus* spp., que engloba os principais ácaros plantícolas potenciais pragas, existem relatos na literatura de efetividade dos óleos de *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) e *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), incluindo seus principais compostos, linalol e carvona, ao controle de *T. urticae* (Badawy et al. 2010; Pavela et al. 2016).

Para que ocorra um eficiente manejo integrado de pragas, é desejável que exista compatibilidade entre diferentes métodos de controle. Neste aspecto, ácaros predadores, principalmente da família Phytoseiidae, são amplamente utilizados em diversos cultivos agrícolas como táticas de manejo ecológico (Marafeli et al. 2011), podendo até mesmo se estabelecerem em algumas culturas. Estudos mostram que *E. concordis* são encontrados em cafeeiros e em outras culturas perenes (Komatsu and Nakano 1988) e os mesmos conseguem se manter através de alimentos alternativos na ausência da praga, fato que justifica a utilização de inseticidas sintéticos ou botânicos seletivos (Spongowski et al. 2005; Mineiro et al. 2006; Silva et al. 2010).

Dessa forma este estudo teve como objetivos avaliar (1) desempenho acaricida em aplicação tópica e repelente de 13 óleos essenciais de plantas da família Lauraceae, Lamiaceae, Myrtaceae e Rutaceae ao ácaro *O. ilicis*; (2) as toxicidades em bioensaios de fumigação, ovicida, residual e larvicida dos dois óleos altamente ativos, *C. cassia* e *T. vulgaris*; (3) caracterizar quimicamente os óleos ativos e verificar sua toxicidade juntamente com os compostos majoritários aos ácaros *O. ilicis* e ao predador *E. concordis*; e (4) taxa de oviposição destes ácaros submetidos aos óleos e compostos.

2.2- Material e métodos

Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais empregados nesse trabalho foram adquiridos comercialmente por meio da empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA (Tabela 1).

Tabela 1- Nomes científico e comercial pertencentes aos óleos essenciais adquiridos pela empresa Ferquima Ltda e utilizados nos tratamentos desse estudo.

Nome comercial do óleo essencial	Nome científico	Família	Parte da planta utilizada
Lavanda	<i>Lavandula officinalis</i>	Lamiaceae	Flores
Tomilho Branco	<i>Thymus vulgaris</i>		Flores e folhas
Cânfora Branca	<i>Cinnamomum camphora</i>	Lauraceae	Madeira
Ho Wood	<i>Cinnamomum camphora</i> var. <i>linalooliferum</i>		Madeira
Canela Cássia	<i>Cinnamomum cassia</i>		Folhas e cascas
Eucalipto Citriodora	<i>Eucalyptus citriodora</i>	Myrtaceae	Folhas
Eucalipto Globulus	<i>Eucalyptus globulus</i>		Folhas
Eucalipto Staigeriana	<i>Eucalyptus staigeriana</i>		Folhas
Melaleuca (Tea Tree)	<i>Melaleuca alternifolia</i>		Folhas
Lima Destilada	<i>Citrus aurantifolia</i>	Rutaceae	Frutos*
Petitgrain Paraguai	<i>Citrus aurantium</i>		Folhas
Tangerina	<i>Citrus reticulata</i> var. <i>tangerine</i>		Casca dos frutos*
Bergamota	<i>Citrus aurantium</i> var. <i>bergamia</i>		Casca dos frutos*

* Prensagem a frio

Fonte: Ferquima Ltda (2020)

Cromatografia gasosa acoplada e espectrometria de massas (CG-EM)

Os óleos essenciais mais ativos para *O. ilicis*, *C. cassia* e *T. vulgaris* tiveram o perfil metabólito avaliado empregando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). As análises qualitativas foram conduzidas em Cromatógrafo a Gás Shimadzu GCMS-QP2010 Plus em coluna capilar apolar RTx5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Foram empregadas as seguintes condições: modo split a uma razão de injeção de 1/20, temperatura de 250°C para o injetor e fonte de íons e 280°C para a interface. A temperatura inicial foi programada para 60°C para os 5 primeiros minutos, aumentando a uma taxa de 3°C/min até a temperatura final de 240°C, completando com uma isoterma de 5 minutos. Os componentes foram identificados baseados em comparações com o índice de retenção relativo usando dados de uma série de n-alcenos (C8-C19), espectro de massas do banco de dados do equipamento, seguida por comparação com os índices de retenção de dados publicados (Adams 2007).

Para as análises quantitativas foi empregado o Cromatógrafo Shimadzu Gas 2010 com Detector de Ionização de Chama (GC-FID), em uma coluna OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 um) sob as seguintes condições: He foi usado com gás de arraste a fluxo constante de 1 mL/min, taxa de injeção de 1/20, volume de injeção de 1 ul do óleo diluído em éter etílico, com detector a temperatura de 280°C, e o injetor a 250°C. A temperatura inicial da coluna foi de 60°C por 5 minutos, programada para aquecimento a uma taxa de 3°C/min até atingir a temperatura final de 240°C, completando com uma isoterma por 5 minutos.

Criação e manutenção dos ácaros em laboratório

As criações do ácaro praga e predador foram mantidas em sala climatizada com temperatura de 25±2 °C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14 horas. Os ácaros foram coletados nos cafezais localizados no Campus da Universidade Federal de Lavras, MG, Brasil e em cafezais da região. Espécimes de ácaros foram coletados, frequentemente, no campo e colocados nas criações-estoque a fim de manter a variabilidade genética.

Criação de *O. ilicis*

Os ácaros foram mantidos em arenas confeccionadas com folhas inteiras destacadas de cafeeiro, livre de agroquímicos, conforme metodologia descrita por Reis et al. (1997). Para isso, placas de Petri de 20 cm de diâmetro por 2 cm de profundidade tiveram o fundo recoberto com esponja (1 cm de espessura) umedecida com água destilada diariamente, sobre a qual foram dispostas folhas de cafeeiro contendo os ácaros. Para a obtenção de ácaros com a mesma idade (1-2 dias) para a montagem dos experimentos, ocorreu a separação prévia de uma quantidade de ovos da criação estoque, e observação diária para a uniformidade de eclosão de larvas.

Criação do predador *E. concordis*

A criação estoque do ácaro predador foi realizada seguindo metodologia de Reis et al. (1997). Foram utilizadas arenas confeccionadas com discos flexíveis de lâmina plástica, de cor preta, com 9 cm de diâmetro, acondicionadas sobre uma pequena lâmina d'água no interior de placas de Petri de 15 cm de diâmetro. As arenas eram providas de um pequeno orifício no centro, para a passagem de um alfinete preso no fundo da placa com o auxílio de

um adesivo à base de silicone, este com a ponta voltada para cima e a água contida no interior das placas servindo tanto como barreira, evitando a fuga, como para superfície para colocar-se pólen, para a alimentação dos ácaros. Em cada arena foi colocada uma lamínula de vidro transparente ou um pedaço de plástico transparente contendo embaixo fios de algodão hidrófilo, que serviu de abrigo e de local para postura dos ácaros.

Os ácaros receberam como alimentação pólen de mamoneira (*Ricinus communis* L.) coletado conforme metodologia descrita por Komatsu and Nakano (1988), e posteriormente armazenado em vidro vedado dentro de refrigerador à temperatura de 3 a 5°C, o estoque de pólen foi renovado quinzenalmente. Frequentemente eram oferecidos ao predador *E. concordis* presas *O. ilicis* e *T. urticae* também para a alimentação. Quando as arenas estavam sujas de pólen e exúvias, os ácaros foram transferidos para outra arena, a fim de se manter a visibilidade do crescimento da população, bem como caracterização sexual e fase de desenvolvimento.

Bioensaios

Todos os experimentos foram realizados em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas no Laboratório de Acarologia do Centro de Pesquisa em Manejo Ecológico de Pragas e Doenças de Plantas - EcoCentro da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - Epamig Sul de Minas no Campus da UFLA em Lavras, MG.

Foram utilizados em folhas de cafeeiro (*Coffea* spp.), coletadas de plantas que não sofreram nenhum tipo de tratamento fitossanitário, sendo que as mesmas serviram como superfície de aplicação e como fonte de alimento para os ácaros ali contidos. Cada parcela experimental consistiu de 10 ácaros sendo empregadas 8 repetições por tratamento. As aplicações nos testes de pulverização foram feitas por meio de torre de Potter, a uma pressão de 15lb/pol², com um volume de aplicação de $1,5\pm 0,5$ mg/cm², em conformidade com o proposto pela IOBC/WPRS (Hassan et al. 1994). A mesa de pulverização da torre foi mantida a uma distância de 1,7 cm do tubo de pulverização, representando o que ocorre quando é feita uma pulverização em campo.

Em todos os bioensaios utilizou-se acetona como solvente, e foi utilizado o aparelho de ultrassom para realizar as solubilizações. Como testemunha positiva foi utilizado o acaricida Abamectin Nortox®, Nortox S.A. Abamectina (avermectina) em concentração máxima para a cultura recomendada (0,3 ml/L de água), cafeeiro; como testemunha negativa

foi utilizado apenas acetona. Nos ensaios com vistas a avaliar a mortalidade, foi considerado morto o indivíduo que não respondia com movimentos dos apêndices ao toque de um fino pincel.

Screening de óleos essenciais em ensaio de aplicação tópica para *O. ilicis*

Foram empregados os óleos essenciais (Tabela 1) na concentração de 10 mg/ml previamente solubilizados em acetona. Cada tratamento constituiu de oito placas de Petri de 5 cm de diâmetro e 2 cm de profundidade, cada uma contendo um disco foliar de cafeeiro (3 cm de diâmetro), disposto sobre um pequeno disco de algodão umedecido com água destilada. Em cada parcela experimental foram inoculadas dez fêmeas adultas. As arenas receberam os tratamentos via pulverização em torre de Potter. Após a aplicação as fêmeas adultas foram transferidas para as arenas experimentais livres de qualquer tratamento. As arenas de avaliação foram compostas por um disco foliar do mesmo tamanho (3 cm) sobre uma lâmina d'água com um orifício no meio para apoio no alfinete, de modo que os ácaros ficassem contidos em “ilhas”. A mortalidade das fêmeas foi observada ao longo de sete dias após a pulverização, a cada 24 horas.

Screening de óleos essenciais em ensaio de repelência para *O. ilicis*

Para estudar a atividade repelente dos óleos essenciais ao ácaro *O. ilicis* foi utilizada a metodologia de Kogan and Goeden (1970) com adaptações (Marčić and Međo 2015). Foram pulverizados os óleos essenciais também na concentração de 10 mg/ml, previamente solubilizados em acetona. Os discos foliares de cafeeiro tiveram sua metade coberta com papel alumínio para formação da área controle e a outra metade da folha foi exposta à pulverização, indicando o tratamento. Após a secagem, os discos foliares foram colocados em placas de Petri de 5 cm sob uma lâmina d'água. Com auxílio de um fino pincel, dez fêmeas de ácaros adultos foram liberadas em locais diferentes na nervura principal da folha. A contagem do número de ácaros presentes em cada metade do disco foliar foi realizada a cada 1 hora, durante 4 horas, visando determinar o efeito de repelência a partir do lado de escolha para o forrageamento do ácaros.

Os óleos essenciais provenientes de *Citrus aurantifolia*, *Citrus aurantium* var. *bergamia* e *Citrus aurantium* apresentaram melhor desempenho, por isso foram empregados

em outro experimento, conduzido conforme exposto anteriormente, porém empregando as concentrações de (2, 3, 4 e 5 mg/ml) para a confirmação de repelência.

Determinação da resposta concentração versus mortalidade de *O. ilicis* em bioensaio de aplicação tópica

Neste ensaio, foram empregados os óleos essenciais de *C. cassia* e *T. vulgaris*, que apresentaram bioatividade em aplicação tópica mais promissora. As concentrações avaliadas foram de 2,0; 3,0; 4,5; 6,7; 10 e 14,9 mg/ml, as quais foram determinadas por meio de progressão aritmética, com vistas à obtenção de faixas de concentração que causaram valores de mortalidade entre 20 e 100%.

Também foi estimado o tempo letal mediano, (TL₅₀) e tempo letal a 90% da população (TL₉₀). Para se estimar esses tempos letais as concentrações empregadas foram as concentrações equivalentes a CL₅₀ e CL₉₀.

A mortalidade das fêmeas foi avaliada a cada 24 horas ao longo de sete dias após a pulverização. Para o cálculo da concentração letal mediana (CL₅₀) e concentração letal a 90% da população (CL₉₀) foram empregados os dados obtidos após 72 horas da aplicação dos tratamentos.

Bioensaio de contato residual com *O. ilicis*

Foram empregados os óleos essenciais provenientes de *C. cassia* e *T. vulgaris* em concentração equivalente a CL₉₀ determinada anteriormente em aplicação tópica. Para isso foi conduzida a aplicação dos tratamentos nos discos foliares, via pulverização em torre de Potter. Os discos foliares foram acondicionados em placas de petri 5 cm para formação das unidades experimentais, após 30 segundos os ácaros foram liberados no disco para forrageamento. As avaliações de mortalidade foram realizadas durante 7 dias a cada 24 horas.

Atividade ovicida em *O. ilicis*

Para a condução desse experimento quinze fêmeas adultas dos ácaros foram confinadas nas arenas durante 24 horas para a obtenção dos ovos, dos quais foram utilizados 20 ovos por unidade experimental sendo os outros eliminados. Os ovos, assim obtidos receberam os tratamentos com óleos essenciais de *C. cassia* e *T. vulgaris* em concentração

letal 90%, via pulverização. A eclosão das larvas foi observada diariamente, por meio de um microscópio estereoscópico, e quando houve eclosão da larva, o produto foi considerado sem efeito ovicida.

A viabilidade dos ovos foi avaliada diariamente, durante sete dias, que é o tempo suficiente para o óleo essencial exercer sua atividade sobre o ovo e também para o desenvolvimento e eclosão da larva.

Efeito de óleos essenciais na mortalidade de imaturos de *O. ilicis*

Larvas recém-eclodidas foram utilizadas para a condução deste experimento, para isso foram confinadas 20 fêmeas adultas em discos foliares durante 24 horas, os ovos colocados foram acompanhados durante 2 dias até a uniformização de eclosão de larvas de mesma idade. As larvas então foram submetidas à pulverização com os óleos essenciais de *C. cassia* e *T. vulgaris* em concentração equivalente a (CL₅₀) e transferidas para as parcelas experimentais, livres da aplicação dos tratamentos. A avaliação de mortalidade foi realizada a cada 24 horas durante 72 horas.

Atividade fumigante de óleos essenciais para *O. ilicis*

Os ensaios para verificar atividade acaricida fumigante foram realizados de acordo com o método descrito por Mozaffari et al. (2013) com algumas modificações. Foram utilizadas arenas de manutenção/contenção de ácaros, formadas por placas de Petri 5 cm de diâmetro por 2 cm de profundidade com tampas, contendo dez fêmeas adultas em cada unidade experimental. Discos de papel-filtro foram cortados em 2 cm de diâmetro e colocados no topo das tampas das placas de Petri, impregnados com 25 microlitros da (CL₅₀), a vedação foi feita com papel transparente PVC. Observações do número de ácaros mortos foram registradas durante 72 horas a cada 24 horas, apenas nas primeiras 24 horas os ácaros foram submetidos a ação fumigante do óleo, depois as placas foram mantidas abertas para a avaliação.

Bioensaio de aplicação tópica com os compostos majoritários em *O. ilicis* e *E. concordis*

Os compostos majoritários dos óleos essenciais de *C. cassia* e *T. vulgaris*, respectivamente (trans- Cinamaldeído 97% de pureza e carvacrol 98% pureza) foram

adquiridos pela Sigma-Aldrich. Os tratamentos empregados consistiram dos óleos essenciais e das substâncias puras em concentração equivalente a CL_{90} . Para a determinação da concentração a ser empregada levou-se em consideração, a porcentagem dessas substâncias encontrados na análise quantitativa por CG-EM. Para a aplicação proporcional utilizou-se a seguinte fórmula:

$$CST = COE \times TCM (\%).$$

Onde: CST é a Concentração a ser testada; COE: Concentração do óleo essencial; TCM: Teor do composto majoritário presente no óleo em porcentagem.

O ensaio foi conduzido conforme descrito anteriormente, empregando-se 10 fêmeas de *O. ilicis* ou *E. concordis* por parcela experimental e a avaliação de mortalidade em 7 dias, a cada 24 horas. Adicionalmente foi contabilizado o número de ovos colocados pelas fêmeas dessas espécies a cada 24 horas, sendo retirados durante as avaliações.

Análises estatísticas

Os dados de mortalidade acumulada dos ácaros após a aplicação tópica foram quantificados a cada 24 horas e foram analisados pelo Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM- *Generalized Linear Mixed Models*) ajustado pela aproximação de Laplace, sobre a suposição de uma distribuição binomial de erros e função de link Logit, sendo a variável fixa os óleos avaliados e a variável aleatória o tempo.

Para avaliar se os diferentes óleos foram repelentes, foi utilizado Modelos Lineares Generalizados (GLM) com distribuição Poisson (função de ligação: 'log') e comparadas pelo contraste de Tukey. A proporção de ácaros presentes na folha aplicada na quarta hora foi comparada para determinar o nível de repelência de cada óleo, foram analisadas pelo GLM com distribuição quasibinomial para explicar a sobredispersão dos dados, os mesmos testes forem feitos para comparar as concentrações menores dos óleos de *Citrus aurantium*, *Citrus aurantium* var. *bergamia* e *Citrus aurantifolia*.

Para o cálculo das concentrações letais do óleo de *C. cassia* e *T. vulgaris* foi ajustado um modelo log-logístico com dois parâmetros $y = 1/(1+\exp\{b[\ln(x)-\ln(e)]\})$, o tempo médio até a morte de 50% e 90% da população avaliada foi calculado para cada uma com os valores de CL_{50} dos óleos de *C. cassia* e *T. vulgaris* utilizando também um modelo log-logístico com dois parâmetros se utilizou o teste "lack-of-fit " para verificar a qualidade do ajuste.

A proporção de ovos eclodidos e proporção de mortalidade pelo contato residual dos óleos de canela e tomilho através da aplicação da CL₉₀ foram analisados pelos GLMM, binomial e função de link cloglog. O efeito fumigante dos óleos *C. cassia* e *T. vulgaris* na concentração de CL₅₀ foram analisados até o terceiro dia pelo GLMM, binomial e função de link probit, O efeito na mortalidade dos óleos de *C. cassia* e *T. vulgaris* e seus compostos majoritários em *O. ilicis* forem analisados pelo GLMM, binomial e função de link probit, sendo a variável fixa os óleos avaliados e a variável aleatória o tempo em todos os casos.

O número de ovos colocados pelas fêmeas das espécies *O. ilicis* e *E. concordis* no período de 7 dias, submetidas à aplicação da CL₅₀, CL₉₀ e controle negativo (acetona) foram analisados pelo GLM com distribuição quasipoisson, para explicar a sobredispersão, função de ligação log. O teste da razão de verossimilhança (log-likelihood ratio) foi utilizado para testar o efeito dos diferentes óleos e compostos majoritários, seguida por comparações de Tukey ($p < 0.05$), A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação.

Todas as análises foram feitas utilizando-se o software R 3.6 (R Core Team 2019) e foram utilizados os seguintes pacotes: lme4 (Bates et al. 2015), emmeans (Searle et al. 1980), drc (Ritz et al. 2015) e hnp (Moral et al. 2017)

2.3- Resultados

Screening de óleos essenciais em ensaio de aplicação tópica para *O. ilicis*

Os tratamentos com os óleos essenciais de *C. cassia* e *T. vulgaris*, causaram alta mortalidade em *O. ilicis* atingindo 100% de mortalidade; ($\chi^2 = 2163.952$, d. f. = 14, $p < 0.001$) aos 7 dias de avaliação (Figura 1), resultando assim, um desempenho como potencial acaricida destes, em relação aos outros óleos testados. Os óleos essenciais de *Cinnamomum camphora*, *Citrus aurantifolia* e *Citrus aurantium* var. *bergamia* apresentaram valores médios de mortalidade próximos a testemunha negativa (acetona), indicando menor atividade acaricida. Os óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia*, *Eucalyptus staigeriana* e *Eucalyptus globulus* tiveram valores de mortalidade ao final de 7 dias próximos a 50%, indicando uma toxicidade média.

Screening dos óleos essenciais em ensaio de repelência para *O. ilicis*

No ensaio de repelência foi observado que os óleos de *C. aurantifolia*, *C. aurantium* var. *bergamia* e *C. aurantium* apresentaram ação repelente acumulada na quarta hora avaliada ($\chi^2 = 66.461$, d.f. = 13, $p < 0.001$) (Figura 2).

Ao se analisar os óleos de *C. aurantifolia*, *C. aurantium* var. *bergamia* e *C. aurantium* verificou-se que a repelência tende a diminuir de acordo com a concentração, não havendo diferença significativa da concentração de 10 mg/ml para 5 mg/ml nos três óleos, as concentrações de 2 mg/ml não diferiram do controle negativo (acetona). (Material suplementar 1).

Resposta concentração versus mortalidade de *O. ilicis* em bioensaio de aplicação tópica

As CL_{50} e CL_{90} do tratamento com aplicação de *T. vulgaris* foram de 3.24 e 9.82 mg/ml ($\chi^2 = 46,24$, d.f. = 46, $p = 0$) a CL_{50} apresentou tempo letal 50 e 90 (TL_{50} e TL_{90}) de 3,33 e 15,83 dias ($\chi^2 = 80,68$, d.f. = 108, $p = 0,9771$). O tratamento com *C. cassia* apresentou uma CL_{50} e CL_{90} de 4,90 e 13,69 mg/ml ($\chi^2 = 45.56$, d.f. = 46, $p = 0,4905$), o TL_{50} e TL_{90} da CL_{50} da canela foi de 2,65 e 12,27 dias ($\chi^2 = 73,961$, d.f. = 108, $p = 0,9949$) (Figura 3).

Bioensaio de contato residual com *O. ilicis*

Para a verificação de toxicidade residual dos óleos, foi utilizada a CL_{90} , e durante os 7 dias obtivemos uma mortalidade considerável em relação ao óleo de *T. vulgaris*, que diferiu significativamente do óleo de *C. cassia* e da testemunha ($\chi^2 = 126,21$, d.f. = 2, $p < 0.001$) (Material suplementar 2).

Atividade ovicida em *O. ilicis*

Em relação a atividade ovicida, o óleo de *C. cassia* diferiu da testemunha negativa (acetona) e do óleo de *T. vulgaris*, houve uma redução na eclosão média de larvas depois dos ovos serem tratados com a CL_{90} de *C. cassia*, indicando uma atividade ovicida para ovos do ácaro *O. ilicis* ($\chi^2 = 35,84$, d.f. = 2, $p < 0,001$) (Material suplementar 3).

Atividade fumigante de óleos essenciais para *O. ilicis*

A toxicidade fumigante foi o parâmetro onde os óleos desempenharam a maior eficiência de controle, utilizando a CL_{50} tanto no óleo de *C. cassia* quanto no óleo de *T. vulgaris* em apenas 24 horas atingiu-se 100% de mortalidade da população analisada de *O. ilicis* ($\chi^2 = 63,2$, d.f. = 2, $p < 0,001$) (Material suplementar 4).

Efeito de óleos essenciais na mortalidade de imaturos de *O. ilicis*

A atividade em larvas foi verificada na concentração letal 50%, e em 72 horas foi verificado 100% de mortalidade no óleo de *C. cassia*, no óleo de *T. vulgaris* foi verificada essa mortalidade nas primeiras 24 horas, mostrando efeito significativo dos dois óleos, com destaque de toxicidade ao óleo de *T. vulgaris* ($\chi^2 = 136,21$, d.f. = 2, $p < 0,001$) (Material suplementar 5), sendo coerente com o resultado obtido na aplicação tópica dos mesmos óleos em fêmeas adultas.

Componentes majoritários dos dois óleos principais e suas respectivas toxicidades ao ácaro *O. ilicis*

Utilizando o CG-MS foi possível caracterizar os constituintes químicos dos óleos essenciais de *C. cassia* e *T. vulgaris* (Tabela 2 e 3). Os picos de análise mostraram dois componentes principais do óleo de *T. vulgaris*, orto-cimeno (36%) e carvacrol (26%) e um componente no óleo de *C. cassia*, cinamaldeído <E> (84,21%), o tempo de retenção (TR) desses componentes foram 10,28; 13,00 e 12,82 min, respectivamente.

No que se refere ao óleo essencial de *C. cassia* que apresentou uma grande quantidade do componente cinamaldeído <E> os resultados indicaram que este composto é o responsável pela toxicidade presente no óleo, devido a similaridade das curvas de mortalidade ($\chi^2 = 1126$, d.f. = 2, $p < 0,001$) (Material suplementar 6- A). No óleo de *T. vulgaris* foi verificado, que um dos componentes majoritários, o carvacrol, não possui atividade acaricida significativa para *O. ilicis* ($\chi^2 = 1180$, d.f. = 2, $p < 0,001$). (Material suplementar 6- B).

Bioensaio de aplicação tópica com os óleos e compostos majoritários em *O. ilicis* e *E. concordis*

Observou-se que o óleo de *T. vulgaris* na concentração letal 90% causou alta mortalidade para as duas espécies de ácaros (Figura 4- A). O composto majoritário do *T. vulgaris*, carvacrol, não causou grande mortalidade como o óleo, e suas curvas de mortalidade entre as espécies e controles foram diferentes (Figura 4- B). Para o tratamento *C. cassia*, as duas espécies apresentaram curvas de mortalidade que diferiram entre si, porém a seletividade não foi constatada devido à diferença também do controle negativo (Figura 5- A). Quanto ao composto majoritário cinamaldeído <E>, presente no óleo de *C. cassia*, também foi verificado que não se mostrou seletivo (Figura 5- B) ($\chi^2 = 2362.45$, d. f. = 3, $p < 0,001$).

A quantidade de ovos colocados pelas duas espécies tratadas com os óleos e seus respectivos compostos majoritários, acompanhou a taxa de mortalidade, quanto maior a concentração, maior a mortalidade e conseqüentemente menor foi a quantidade total de ovos depositados. Os compostos majoritários, o cinamaldeído <E> e o carvacrol causaram aumento na oviposição do predador *E. concordis* na dose letal 50%, possivelmente devido ao efeito de hormoligose. No tratamento onde se aplicou cinamaldeído na CL₅₀, a taxa de oviposição de *O. ilicis* também foi alta (Material suplementar 7).

2.4- Discussão

Na literatura, já se foi relatado que diversos óleos essenciais podem apresentar toxicidade a diversas famílias de ácaros, por meio de aplicação tópica, fumigação, repelência e outros meios de contato (Hanifah et al. 2011; Al-Assiuty et al. 2019; de Oliveira et al. 2020). Este estudo foi conduzido com finalidade de se descobrir bases para o desenvolvimento de um agente acaricida provindos de óleos essenciais, sendo uma alternativa a pesticidas químicos para o controle do ácaro-vermelho-do-cafeeiro, que pode atingir surtos de população prejudiciais à produção (Franco et al. 2008). Embora a abordagem convencional de toxicidade tópica de óleos essenciais à artrópodes tenha ajudado a criar montante de fontes vegetais ativas, algumas questões toxicológicas complementares são importantes, como os modos de ação dos óleos e seus compostos para toxicidade aguda, ações comportamentais subletais, incluindo atividade de repelência, toxicidade por contato, efeito em ovos e fertilidade, e outros parâmetros que complementam o manejo ainda não são bem estudados (Tak and Isman 2015).

Nos óleos essenciais são encontradas diversas moléculas que podem ser ativas a ácaros e insetos, devido aos modos de ação diferentes dessas substâncias, o controle pode ser eficiente e uma provável resistência populacional pode ser evitada (Sparagano et al. 2013;

Pavela and Benelli 2016). Embora o modo de ação dos metabólitos secundários descritos nesse trabalho ainda não tenham sido analisados para nenhuma espécie da família Tetranychidae, estes diferentes modos de ação podem se basear na inibição da acetilcolinesterase (AChE) e inibição da atividade total de adenosina trifosfatases (ATPases) quando aplicados de forma tópica (Abdelgaleil et al. 2016). Ao passo que a toxicidade fumigante de muitos óleos essenciais para artrópodes pode ser principalmente devido também à inibição da acetilcolinesterase (Liu et al. 2018); inibição na cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria (Liao et al. 2018), ação nos canais de potássio ativados por cálcio (Gautier et al. 2008) e inibição de monooxigenases dependentes do citocromo P450 (Kaufmann et al. 2011). Muitos óleos essenciais e extratos vegetais são relativamente seguros aos humanos e outros animais, devido a sua ampla utilização para manipulação de cosméticos e como aditivos alimentares (Ahn et al. 2006; US EPA 2011).

Esse é o primeiro trabalho no qual foi avaliada a toxicidade de óleos essenciais de plantas das famílias Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae e Rutaceae para *O. ilicis*. Apesar de nenhum óleo da família Rutaceae (*C. aurantium* var. *bergamia*, *C. aurantifolia*, *C. reticulata* var. *tangerine* e *C. aurantium*) terem apresentado toxicidade para a espécie, existe na literatura relatos da atividade acaricida de *C. aurantium* var. *bergamia*, para outras espécies de ácaros, como *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) (Pazinato et al. 2016) e *C. reticulata* var. *tangerine* e *C. aurantium* para *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) (Araújo et al. 2010; Ribeiro et al. 2019). Para insetos, algumas plantas de *Citrus* spp também apresentaram toxicidade, *C. aurantifolia* possui propriedades inseticidas para *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) (Boodram and Khan 2019), *Tribolium castaneum* H. (Coleoptera: Tenebrionidae) (Abdelgaleil et al. 2015) e *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) (A. Mansour 2011) e ao besouro *Tribolium confusum* J. (Coleoptera: Tenebrionidae) (Campolo et al. 2014). Óleos cítricos também já se mostraram eficientes para o controle da traça do tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e essa eficiência foi maior quando estes óleos foram emulsionados em nanoformulações, diminuindo também a fitotoxidez para as plantas (Campolo et al. 2017), estudos complementares podem verificar o tempo máximo de efeito dos óleos cítricos na repelência dos ácaros à partir das 4 horas testadas, visto que até este período, os óleos no presente estudo mostraram-se eficientes.

Em relação às plantas da família Myrtaceae já foi relatado que óleo essencial de plantas de *Myrtus communis* L. são excelentes repelentes para *T. urticae* (Saad et al. 2006). Óleos do gênero *Eucalyptus* spp. (*Eucalyptus bicostata* e *Eucalyptus sideroxylon*) e seus compostos majoritários limoneno e 1,8-cineol mostraram também efeito na mortalidade,

repelência e redução de fertilidade em fêmeas do ácaro-rajado, *T. urticae* (Roh et al. 2013), tais compostos juntamente com a-pineno também corroboram com os resultados para a mesma espécie de ácaro (Badawy et al. 2010). Neste estudo os óleos de plantas provindos da família Myrtaceae não foram bioativos. Isso pode ser explicado devido ao fato da toxicidade ser espécie-específica, muita das vezes.

Laurus nobilis L. (Lauraceae) na literatura já causou CL₅₀ de 3,16 microlitros/L, mostrando tendo efeitos inseticidas em pulgões da espécie *Aphis gossypii* G. (Ebrahimi et al. 2013). Óleo de casca de canela, *C. cassia* já tiveram efeitos comprovados na repelência e mortalidade de ácaros *Dermanyssus gallinae* (Lee et al. 2019) e também a cânfora, que também pertence ao gênero *Cinnamomum* foram bioativos para outros insetos (Corrêa and Salgado 2011; Cansian et al. 2015). Também, estes mesmos óleos juntamente com o composto químico eugenol já se mostraram repelentes para os ácaros *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens* (Hao et al. 2008; Zeringóta et al. 2013). Em pesquisas anteriores, a atividade inseticida de óleo de *C. camphora* foi comprovada no controle de pragas de grãos armazenados, como *Tribolium confusum* J. (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Coptotermes curvignathus* H. (Blattodea: Rhinotermitidae) (Nenaah and Ibrahim 2011; Roszaini et al. 2013).

Dos óleos essenciais de plantas da família Lauraceae, a espécie *C. cassia* se destacou por desempenhar um efeito acaricida em aplicação tópica e em outros parâmetros. Em um estudo anterior, as respostas acaricidas dos óleos de *C. cassia* demonstraram ter variações de efetividade pela: proporção, tipo de constituinte do óleo essencial, efeito da enzima de desintoxicação e condições biológicas dos ácaros de espécies diferentes (Yang and Lee 2012). Efeitos inseticidas de metabólitos secundários provindos de *C. cassia* já foram relatados para diversos insetos na literatura (Jeon et al. 2017; Wang et al. 2018) em relação ao aldeído cinâmico aromático (cinamaldeído <E>), que foi detectado como substância majoritária, justifica-se também essa propriedade bioinseticida, este composto é conhecido como agente antimicrobiano natural de patógenos contaminantes de alimentos (Holley and Patel 2005). Seu mecanismo de ação é associado à formação de base de Schiff com proteínas de membrana pela reação com seu grupo carbonílico livre, o que provoca danos na membrana celular, bloqueando o transporte de substâncias pela membrana plasmática (González-Aguilar et al. 2011; Wei et al. 2011). Em relação aos compostos químicos detectados neste estudo pela CG-EM do óleo de *C. cassia*, foram condizentes com os resultados encontrados por Li et al. (2013) e por Kang and Lee (2018), onde o composto majoritário resultante de três tipos de

extração diferentes (solvente orgânico-OS, destilação a vapor-SD, e fluido supercrítico-SF) foi também o cinamaldeído <E>, e os compostos minoritários também foram condizentes com estudos anteriores (Jardim et al. 2018).

Óleos essenciais de quatorze espécies de plantas da família Lamiaceae já mostraram atividades acaricidas e repelentes em fêmeas adultas do ácaro-vermelho-do-carmim *Tetranychus. cinnabarinus* B. (Mansour et al. 1986), para o ácaro-rajado, *T. urticae* as espécies *Origanum vulgare* L, *Micromeria fruticosa* L. e *Nepeta racemosa* L. também pertencentes a família Lamiaceae tiveram efeitos acaricidas constatados (Çalmaşur et al. 2006; Gholamzadeh Chitgar et al. 2013). Também para o ácaro-rajado, os óleos essenciais e extratos de plantas de lavanda *L. officinalis* C. e tomilho *T. vulgaris* L. em aplicação tópica, pulverização, controlou populações, sendo que o thymol, composto majoritário do óleo de tomilho alterou a fecundidade e fertilidade de fêmeas tratadas com doses subletais desde composto, diminuindo consideravelmente suas populações (Najafabadi et al. 2012).

O óleo de *T. vulgaris* já foi analisado por CG-EM em diversos países e várias análises mostram perfis diferentes de composição química, em locais da França e Sérvia foram encontrados geraniol, eugenol, timol, sabineno, p-cimeno e carvacrol como compostos majoritários do mesmo óleo provindos de locais de produção diferentes (Satyal et al. 2016), essa diferença é detectada devido a diversos fatores, como variedades da mesma espécie, local de crescimento da planta e os fatores ambientais, tipo de metodologia utilizado para a extração e entre outros fatores (Thompson et al. 2003; Pavela et al. 2009).

No presente estudo, os dois óleos essenciais promissores (*T. vulgaris* e *C. cassia*) também foram tóxicos para fêmeas do ácaro *E. concordis* adulto. Esses resultados sugerem que, se *E. concordis* for usado como agente de controle biológico, seu tempo de liberação deve ser selecionado adequadamente para minimizar o efeito colateral pela eventual toxicidade residual do óleo. Resultados semelhantes foram obtidos por Choi et al. (2004) quando também foram testados óleos essenciais das famílias Rutaceae, Lamiaceae, Lauraceae e Myrtaceae e os mesmos foram tóxicos à praga *T. urticae* e ao predador *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae) na mesma proporção.

O composto químico carvacrol não demonstrou um desempenho de toxicidade ao ácaro *O. ilicis*, em estudo para o ácaro *T. urticae* este mesmo composto foi altamente tóxico na aplicação de 10mg/ml em 24 h, reduzindo sua efetividade de acordo com a redução da concentração (Tak and Isman 2017), este composto também se mostrou tóxico para o tripses *Anaphothrips obscurus* (Müller) (Thysanoptera: Thripidae) em laboratório e casa de

vegetação (Lu et al. 2020). Dessa maneira é possível verificar que os constituintes químicos em menores proporções (minoritários) presentes nesse óleo essencial também sejam bioativos (Luo et al. 2019) para a espécie, ou que exista efeito de sinergismo entre as substâncias presentes (Ali et al. 2018; Pandiyan et al. 2019).

A toxicidade em ensaio de fumigação foi onde os óleos essenciais de *T. vulgaris* e *C. cassia* obtiveram melhor desempenho tóxico, isso é causado pela alta pressão de vapor dos componentes constituintes dos óleos essenciais no geral, além do fato de que a penetração desses óleos essenciais serem mais rápidas através das vias aéreas, na forma de vapor, do que por contato, causando uma penetração imediata e uma ação acaricida instantânea em diversas espécies já testadas (Na et al. 2011; Ribeiro et al. 2019; Devi et al. 2020).

A hormese e hormoligose em artrópodes acontece pelo contato subletal de moléculas inseticidas, estes, estimulam surtos de população em artrópodes não alvo, estes mecanismos já foram detectados em ácaros desde a década de 70 por Dittrich et al. (1974) e mais recentemente detectados ao ácaro *O. ilicis* que geralmente exhibe surtos nas plantações de café após aplicações de piretroides contra o bicho-mineiro, *Leucopetera coffeella* G. (Guedes and Cutler 2014). Apesar das semelhanças fisiológicas, os ácaros predadores do ácaro-vermelho não são comprometidos pelo piretroide deltametrina, que é mais tóxica para o a praga e além disso, a deltametrina não leva a efeito comportamental dos ácaros predadores, mas induz o efeito de hormese no ácaro-vermelho (Cordeiro et al. 2013). No presente estudo quando houve a avaliação da oviposição na praga e no predador, foi observado que o ácaro predador teve maior taxa de oviposição quando submetido à aplicação dos compostos carvacrol e cinamaldeído <E> na concentração letal 50%, confirmando o fato de que efeitos de hormoligose podem ser diferentes em cada espécie. Para os compostos químicos em questão, não se há registro de ação hormética ou de hormoligose para artrópodes, sendo este o primeiro relato de aumento de taxa de oviposição em um organismo não-alvo.

O fato dos óleos essenciais promissores ao controle de *O. ilicis* terem afetado a sobrevivência também do inimigo natural *E. concordis* é de grande importância, visto que este ácaro possui grande capacidade de predação e está intimamente associado à praga (da Silveira et al. 2020). Estes resultados abrem perspectivas para o desenvolvimento de novas pesquisas com vistas a determinar efeitos residuais dos óleos nestes predadores e a partir disso sugerir-se novas técnicas de manejo para a cultura do cafeeiro.

Dessa forma, no presente trabalho pode ser constatada a repelência dos óleos de *Citrus* spp e atividade acaricida dos óleos de *C. cassia* e de *T. vulgaris* e do composto majoritário cinamaldeído <E> para *O.ilicis*. Este composto embora ativo pode não ser o único

responsável pela atividade acaricida constatada no óleo. Destaca-se ainda a importância de estudar mais métodos para se empregar estas substâncias e compostos com vistas a melhorar a integração do uso de inseticidas botânicos com o predador *E. concordis*.

REFERÊNCIAS

- A. Mansour S (2011) Larvicidal Activity of Some Botanical Extracts, Commercial Insecticides and their Binary Mixtures Against the Housefly, *Musca Domestica* L. *Open Toxinology J* 4:1–13. doi: 10.2174/1875414701104010001
- Abdelgaleil SAM, Badawy MEI, Shawir MS, Mohamed MIE (2015) Chemical composition, fumigant and contact toxicities of essential oils isolated from egyptian plants against the stored grain insects; *Sitophilus oryzae* L. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Int Med J* 25:639–647
- Abdelgaleil SAM, Mohamed MIE, Shawir MS, Abou-Taleb HK (2016) Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *J Pest Sci* (2004) 89:219–229. doi: 10.1007/s10340-015-0665-z
- Adams RP (2007) Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured publishing corporation Carol Stream, IL
- Ahn YJ, Kim S Il, Kim HK, Tak JH (2006) Chapter 12 Naturally occurring house dust mites control agents: development and commercialization. *Adv. Phytomedicine* 3:269–289
- Al-Assiuty BA, Nenaah GE, Ageba ME (2019) Chemical profile, characterization and acaricidal activity of essential oils of three plant species and their nanoemulsions against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored-food mite. *Exp Appl Acarol* 79:359–376. doi: 10.1007/s10493-019-00432-x
- Ali A, Radwan MM, Wanas AS, Khan IA (2018) Repellent Activity of Carrot Seed Essential Oil and Its Pure Compound, Carotol, Against Mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 34:272–280. doi: 10.2987/18-6751.1
- Araújo CP, da Camara CAG, Neves IA, et al (2010) Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three Citrus species cultivated in NE Brazil. *Nat Prod Commun* 5:471–6
- Badawy MEI, El-Arami SAA, Abdelgaleil SAM (2010) Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Exp Appl Acarol* 52:261–274. doi: 10.1007/s10493-010-9363-y
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Stat Softw* 67:w. doi: 10.18637/jss.v067.i01
- Boodram R, Khan A (2019) Bioactivity of essential oils Bioactivity of *Citrus aurantifolia* , *Citrus limon* and *Piper nigrum* essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F .) (Coleoptera : Bruchidae). *J Biopestic* 12:76–82
- Çalmaşur Ö, Aslan I, Şahin F (2006) Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Ind Crops Prod* 23:140–146. doi: 10.1016/j.indcrop.2005.05.003
- Campolo O, Cherif A, Ricupero M, et al (2017) Citrus peel essential oil nanoformulations to control the tomato borer, *Tuta absoluta*: Chemical properties and biological activity. *Sci Rep* 7:. doi: 10.1038/s41598-017-13413-0

- Campolo O, Malacrinò A, Zappalà L, et al (2014) Fumigant bioactivity of five Citrus essential oils against *Tribolium confusum*. *Phytoparasitica* 42:223–233. doi: 10.1007/s12600-013-0355-4
- Cansian RL, Astolfi V, Cardoso RI, et al (2015) Atividade inseticida e repelente do óleo essencial de *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* Y. Fujita (Ho-Sho) e *Cinnamomum camphora* (L.) J Presl. var. *hosyo* (Hon-Sho) sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera, Curculionidae). *Rev Bras Plantas Med* 17:769–773. doi: 10.1590/1983-084X/14_074
- Caubet Y, Jaisson P, Lenoir A (1992) Preimaginal Induction of Adult Behaviour in Insects. *Q J Exp Psychol Sect B* 44:165–178. doi: 10.1080/02724999208250610
- Choi W-I, Lee S-G, Park H-M, Ahn Y-J (2004) Toxicity of Plant Essential Oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *J Econ Entomol* 97:553–558. doi: 10.1093/jee/97.2.553
- Collatz J, Dorn S (2013) Tritrophic consequences arising from a host shift between apple and walnut in an oligophagous herbivore. *Biol Control* 65:330–337. doi: 10.1016/j.biocontrol.2013.03.011
- Cordeiro EMG, de Moura ILT, Fadini MAM, Guedes RNC (2013) Beyond selectivity: Are behavioral avoidance and hormesis likely causes of pyrethroid-induced outbreaks of the southern red mite *Oligonychus ilicis*? *Chemosphere* 93:1111–1116. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.06.030
- Corrêa JCR, Salgado HRN (2011) Atividade inseticida das plantas e aplicações: Revisão. *Rev. Bras. Plantas Med.* 13:500–506
- da Silveira EC, Reis PR, Siqueira MF, et al (2020) Functional response of *Euseius concordis* feeding on *Oligonychus ilicis* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). *Exp Appl Acarol.* doi: 10.1007/s10493-019-00454-5
- de Oliveira JL, Campos EVR, Camara MC, et al (2020) Hydrogels Containing Botanical Repellents Encapsulated in Zein Nanoparticles for Crop Protection. *ACS Appl Nano Mater* 3:207–217. doi: 10.1021/acsanm.9b01917
- Devi MA, Nameirakpam B, Devi TB, et al (2020) Chemical compositions and insecticidal efficacies of four aromatic essential oils on rice weevil *Sitophilus oryzae* L. *Int J Trop Insect Sci.* doi: 10.1007/s42690-020-00102-1
- Dittrich V, Streibert P, Bathe PA (1974) An Old Case Reopened: Mite Stimulation by Insecticide Residues. *Environ Entomol* 3:534–540. doi: 10.1093/ee/3.3.534
- Ebrahimi M, Safaralizade MH, Valizadegan O, Amin BHH (2013) Efficacy of three plant essential oils, *Azadirachta indica* (Adr. Juss.), *Eucalyptus camaldulensis* (Dehn.) and *Laurus nobilis* (L.) on mortality cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Hem: Aphididae). *Arch Phytopathol Plant Prot* 46:1093–1101. doi: 10.1080/03235408.2012.758347
- Fahl JI, Queiroz-Voltan RB, Carelli MLC, et al (2007) Alterations in leaf anatomy and physiology caused by the red mite (*Oligonychus ilicis*) in plants of *Coffea arabica*. *Brazilian J Plant Physiol* 19:61–68. doi: 10.1590/s1677-04202007000100007
- Franco R, Franco RA, Reis PR, et al (2008) Population dynamics of *Oligonychus ilicis*

- (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) in coffee plants and of their associated phytoseiids. *Coffee Sci* 3:38–46. doi: 10.25186/cs.v3i1.71
- Gaitán AL, Cristancho MA, Caicedo BLC, et al (2015) Compendium of coffee diseases and pests. APS Press, The American Phytopathological Society
- Gautier H, Auger J, Legros C, Lapied B (2008) Calcium-Activated Potassium Channels in Insect Pacemaker Neurons as Unexpected Target Site for the Novel Fumigant Dimethyl Disulfide. *J Pharmacol Exp Ther* 324:149–159. doi: 10.1124/jpet.107.128694
- George DR, Olatunji G, Guy JH, Sparagano OAE (2010) Effect of plant essential oils as acaricides against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, with special focus on exposure time. *Vet Parasitol* 169:222–225. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.12.038
- Gholamzadeh Chitgar M, Khosravi R, JalaliSendi J, Ghadamyari M (2013) Sublethal effects of *Thymus vulgaris* essential oil on life-table parameters of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Arch Phytopathol Plant Prot* 46:781–788. doi: 10.1080/03235408.2012.752143
- González-Aguilar GA, Ayala-Zavala JF, Alvarez-Parrilla E, et al (2011) Natural antimicrobial compounds to preserve quality and assure safety of fresh horticultural produce. In: *Natural antimicrobials in food safety and quality*. CABI, Wallingford, pp 277–291
- Guedes RNC, Cutler GC (2014) Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. *Pest Manag Sci* 70:690–697. doi: 10.1002/ps.3669
- Hanifah AL, Awang SH, Ming HT, et al (2011) Acaricidal activity of *Cymbopogon citratus* and *Azadirachta indica* against house dust mites. *Asian Pac J Trop Biomed* 1:365–369. doi: 10.1016/S2221-1691(11)60081-6
- Hao H, Wei J, Dai J, Du J (2008) Host-Seeking and Blood-Feeding Behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Exposed to Vapors of Geraniol, Citral, Citronellal, Eugenol, or Anisaldehyde. *J Med Entomol* 45:533–539. doi: 10.1093/jmedent/45.3.533
- Hassan SA, Bigler F, Bogenschütz H, et al (1994) Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS-working group «pesticides and beneficial organisms». *Entomophaga* 39:107–119. doi: 10.1007/BF02373500
- Holley RA, Patel D (2005) Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.* 22:273–292
- Jardim IN, Oliveira DF, Silva GH, et al (2018) (E)-cinnamaldehyde from the essential oil of *Cinnamomum cassia* controls *Meloidogyne incognita* in soybean plants. *J Pest Sci* (2004) 91:479–487. doi: 10.1007/s10340-017-0850-3
- Jeon Y-J, Lee S-G, Yang Y-C, Lee H-S (2017) Insecticidal activities of their components derived from the essential oils of *Cinnamomum* sp. barks and against *Ricania* sp. (Homoptera: Ricaniidae), a newly recorded pest. *Pest Manag Sci* 73:2000–2004. doi: 10.1002/ps.4627
- Kang MS, Lee HS (2018) Acaricidal and insecticidal responses of *Cinnamomum cassia* oils and main constituents. *Appl Biol Chem* 61:653–659. doi: 10.1007/s13765-018-0402-4
- Kaufmann D, Dogra AK, Wink M (2011) Myrtenal inhibits acetylcholinesterase, a known

- Alzheimer target. *J Pharm Pharmacol* 63:1368–1371. doi: 10.1111/j.2042-7158.2011.01344.x
- Kim HK, Lee SJ, Hwang BY, et al (2018) Acaricidal and repellent effects of *Cnidium officinale*-derived material against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Exp Appl Acarol* 74:403–414. doi: 10.1007/s10493-018-0249-8
- Kim JR, Perumalsamy H, Lee JH, et al (2016) Acaricidal activity of *Asarum heterotropoides* root-derived compounds and hydrodistillate constitutes toward *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata: Dermanyssidae). *Exp Appl Acarol* 68:485–495. doi: 10.1007/s10493-015-0005-2
- Kogan M, Goeden RD (1970) The Host-Plant Range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ann Entomol Soc Am* 63:1175–1180. doi: 10.1093/aesa/63.4.1175
- Komatsu SS, Nakano O (1988) Estudos visando o manejo de ácaro da leprose em citros através do ácaro predador *Euseius concordis* (Acari: Phytoseiidae). *Laranja PP - Cordeiro* 9:125–146
- Lee SJ, Kim HK, Kim GH (2019) Toxicity and effects of essential oils and their components on *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Exp Appl Acarol* 78:65–78. doi: 10.1007/s10493-019-00363-7
- Li YQ, Kong DX, Wu H (2013) Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. *Ind Crops Prod* 41:269–278. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.04.056
- Liao M, Yang QQ, Xiao JJ, et al (2018) Toxicity of *Melaleuca alternifolia* essential oil to the mitochondrion and NAD⁺/NADH dehydrogenase in *Tribolium confusum*. *PeerJ* 2018:. doi: 10.7717/peerj.5693
- Liu Z, Zhang Q, Wu X, et al (2018) Insecticidal Mechanism of Wintergreen Oil Against the Health Pest *Paederus fuscipes* (Coleoptera: Staphylinidae). *J Med Entomol* 55:155–162. doi: 10.1093/jme/tjx162
- Lu XP, Liu JH, Weng H, et al (2020) Efficacy of binary combinations between methyl salicylate and carvacrol against thrips *Anaphothrips obscurus*: laboratory and field trials. *Pest Manag Sci* 76:589–596. doi: 10.1002/ps.5551
- Luo C, Li D-L, Wang Y, et al (2019) Bioactivities of 3-Butylidenephthalide and *n*-Butylbenzene from the Essential Oil of *Ligusticum jeholense* against Stored-product Insects. *J Oleo Sci* 68:931–937. doi: 10.5650/jos.ess19080
- Mansour F, Ravid U, Putievsky E (1986) Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Phytoparasitica* 14:137–142. doi: 10.1007/BF02980899
- Marafeli P de P, Reis PR, Silveira EC da, et al (2011) *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954) preying in different life stages of *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). *Acarologia* 51:499–506. doi: 10.1051/acarologia/20112031
- Marčić D, Međo I (2015) Sublethal effects of azadirachtin-A (NeemAzal-T/S) on *Tetranychus*

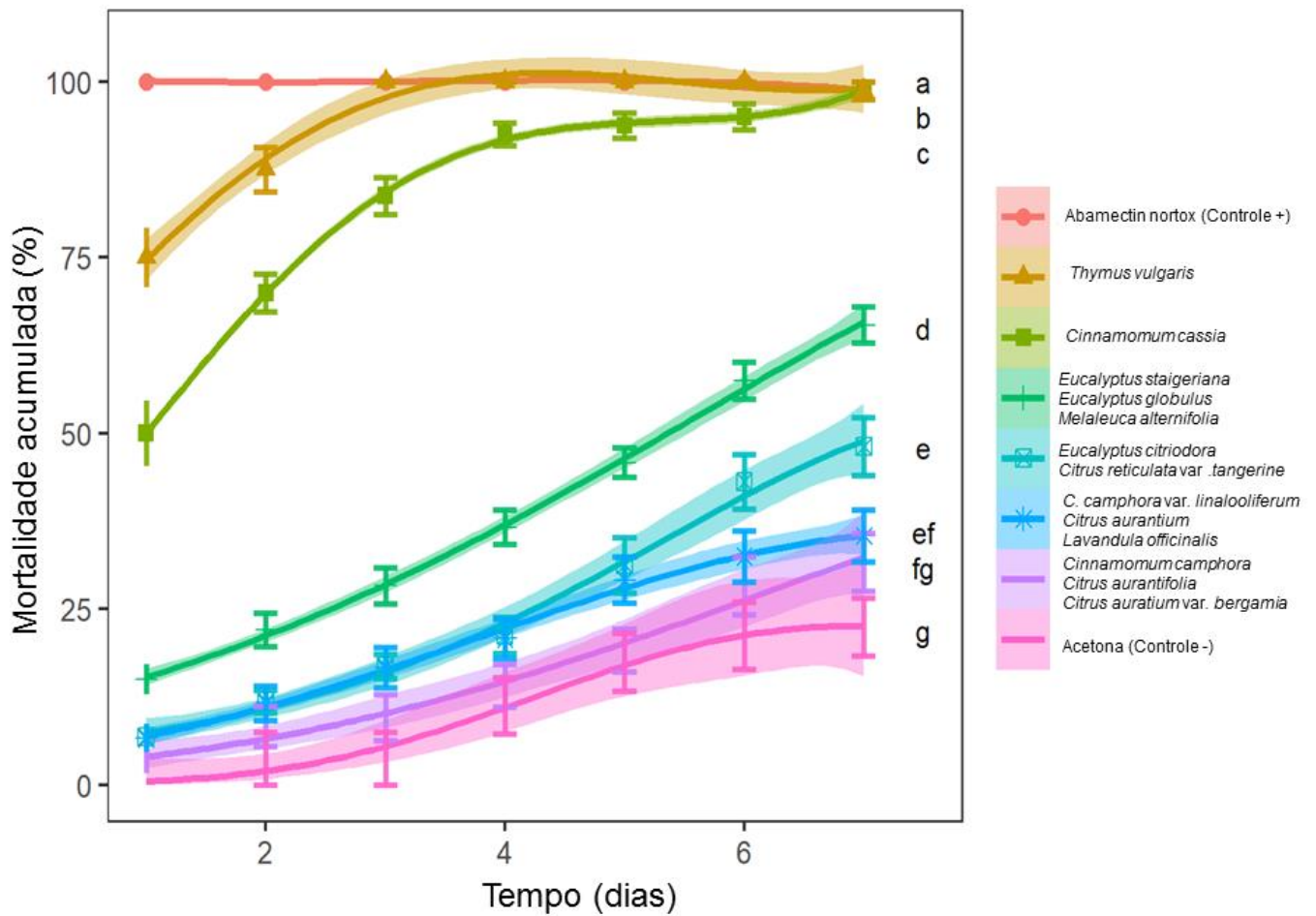
- urticae* (Acari: Tetranychidae). Syst Appl Acarol 30:25. doi: 10.11158/saa.20.1.4
- Mathur R, Navya PN, Basavaraj K, Murthy PS (2014) Bioprocess of robusta cherry coffee with polyphenol oxidase and quality enhancement. Eur Food Res Technol 240:319–325. doi: 10.1007/s00217-014-2331-8
- Matiello JB (1998) Café conilon: como plantar, tratar, colher, preparar e vender. MM Produções Gráficas, Rio Janeiro
- Mineiro JL de C, Sato ME, Raga A, et al (2006) Diversidade de ácaros (Arachnida: Acari) em *Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo, nos municípios de Jeriquara e Garça, Estado de São Paulo. Biota Neotrop 6:. doi: 10.1590/s1676-06032006000200012
- Moraes GJ, Flechtmann CHW (2008) Manual of Acarology, basic acarology and mites of cultivated plants in Brazil
- Moral RA, Hinde J, Demétrio CGB (2017) Half-Normal Plots and Overdispersed Models in R : The hnp Package. J Stat Softw 81:. doi: 10.18637/jss.v081.i10
- Mozaffari F, Abbasipour H, Garjan AS, et al (2013) Toxicity and Oviposition Deterrence and Repellency of *Mentha pulegium* (Lamiaceae) Essential Oils against *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae). J Essent Oil-Bearing Plants 16:575–581. doi: 10.1080/0972060X.2013.854500
- Na YE, Kim S Il, Bang HS, et al (2011) Fumigant toxicity of cassia and cinnamon oils and cinnamaldehyde and structurally related compounds to *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Vet Parasitol 178:324–329. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.01.034
- Najafabadi SSM, Taji M, Hajihassani A (2012) Study on *Thymus vulgaris*, *Lavandula officinalis* and *Eucalyptus camaldulensis* extracts on the two-spotted spider mite. Int J AgriScience 2:228–236
- Nenaah GE, Ibrahim SIA (2011) Chemical composition and the insecticidal activity of certain plants applied as powders and essential oils against two stored-products coleopteran beetles. J Pest Sci (2004) 84:393–402. doi: 10.1007/s10340-011-0354-5
- Pandiyan GN, Mathew N, Munusamy S (2019) Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. Ecotoxicol Environ Saf 174:549–556. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.03.019
- Park Y-U, Koo H-N, Kim G-H (2012) Chemical Composition, Larvicidal Action, and Adult Repellency of *Thymus magnus* Against *Aedes albopictus*. J Am Mosq Control Assoc 28:192–198. doi: 10.2987/12-6250r.1
- Pavela R, Benelli G (2016) Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. Trends Plant Sci. 21:1000–1007
- Pavela R, Stepanycheva E, Shchenikova A, et al (2016) Essential oils as prospective fumigants against *Tetranychus urticae* Koch. Ind Crops Prod 94:755–761. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.09.050
- Pavela R, Vrchotová N, Tříška J (2009) Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Parasitol Res 105:1365–1370. doi: 10.1007/s00436-009-1571-1

- Pazinato R, Volpato A, Baldissera MD, et al (2016) In vitro effect of seven essential oils on the reproduction of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *J Adv Res* 7:1029–1034. doi: 10.1016/j.jare.2016.05.003
- Pitasawat B, Champakaew D, Choochote W, et al (2007) Aromatic plant-derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control. *Fitoterapia* 78:205–210. doi: 10.1016/j.fitote.2007.01.003
- R Core Team (2019) R: A Language and Environment for Statistical Computing
- Reis PR, Alves EB, Sousa EO (1997) Biologia do ácaro-vermelho do cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917). *Ciência e Agrotecnologia* 21:260–266
- Ribeiro NC, da Camara CAG, Melo JPR, de Moraes MM (2019) Acaricidal properties of essential oils from agro- industrial waste products from citric fruit against *Tetranychus urticae*. *J Appl Entomol* 143:731–743. doi: 10.1111/jen.12642
- Ritz C, Baty F, Streibig JC, Gerhard D (2015) Dose-Response Analysis Using R. *PLoS One* 10:e0146021. doi: 10.1371/journal.pone.0146021
- Rodríguez-López NF, Cavatte PC, Silva PEM, et al (2013) Physiological and biochemical abilities of robusta coffee leaves for acclimation to cope with temporal changes in light availability. *Physiol Plant* 149:45–55. doi: 10.1111/ppl.12010
- Roh HS, Lee BH, Park CG (2013) Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). *J Asia Pac Entomol* 16:245–249. doi: 10.1016/j.aspen.2013.03.001
- Roszaini K, Nor Azah MA, Mailina J, et al (2013) Toxicity and antitermite activity of the essential oils from *Cinnamomum camphora*, *Cymbopogon nardus*, *Melaleuca cajuputi* and *Dipterocarpus sp.* against *Coptotermes curvignathus*. *Wood Sci Technol* 47:1273–1284. doi: 10.1007/s00226-013-0576-1
- Saad EZ, Hussien R, Saher F, Ahmed Z (2006) Acaricidal activities of some essential oils and their monoterpenoidal constituents against house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). *J Zhejiang Univ Sci B* 7:957–962. doi: 10.1631/jzus.2006.B0957
- Satyral P, Murray B, McFeeters R, Setzer W (2016) Essential Oil Characterization of *Thymus vulgaris* from Various Geographical Locations. *Foods* 5:70. doi: 10.3390/foods5040070
- Searle SR, Speed FM, Milliken GA (1980) Population Marginal Means in the Linear Model: An Alternative to Least Squares Means. *Am Stat* 34:216–221. doi: 10.1080/00031305.1980.10483031
- Silva EA, Reis PR, Zacarias MS, Marafeli PP (2010) Fitoseídeos (Acari: Phytoseiidae) associados a cafezais e fragmentos florestais vizinhos. *Cienc e Agrotecnologia* 34:1146–1153. doi: 10.1590/s1413-70542010000500010
- Sparagano O, Khallaayoune K, Duvallet G, et al (2013) Comparing Terpenes from Plant Essential Oils as Pesticides for the Poultry Red Mite (*Dermanyssus gallinae*). *Transbound Emerg Dis* 60:150–153. doi: 10.1111/tbed.12138
- Spongowski S, Reis PR, Zacarias MS (2005) Acarofauna da cafeicultura de cerrado em

- Patrocínio, Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia* 29:9–17. doi: 10.1590/s1413-70542005000100001
- Tak JH, Isman MB (2015) Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia ni*. *Sci Rep* 5:. doi: 10.1038/srep12690
- Tak JH, Isman MB (2017) Acaricidal and repellent activity of plant essential oil-derived terpenes and the effect of binary mixtures against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Ind Crops Prod* 108:786–792. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.08.003
- Thompson JD, Chalchat JC, Michet A, et al (2003) Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *J Chem Ecol* 29:859–880. doi: 10.1023/A:1022927615442
- US EPA (2004) US Environmental Protection Agency online-. In: In:Biopesticides–25b Minim. risk Pestic. http://www.epa.gov/opppd1/biopesticides/regtools/25b_list.html. Accessed 15 Jan 2020
- US EPA (2011) United States Environmental Protection Agency online. In: Pestic. reregistration Perform. Meas. goals. <https://www.federalregister.gov/documents/2011/03/02/2011-4649/pesticide-reregistra%0Aion-performance-measures-and-goals>. Accessed 2 Dec 2019
- USDA (2015) United States Department of Agriculture PSD online. <http://www.fas.usda.gov/psdonline/>. Accessed 15 Jan 2020
- Wang Y, Dai PP, Guo SS, et al (2018) Supercritical carbon dioxide extract of *Cinnamomum cassia* bark: toxicity and repellency against two stored-product beetle species. *Environ Sci Pollut Res* 25:22236–22243. doi: 10.1007/s11356-018-2342-2
- Wei Y, Perez LJ, Ng W-L, et al (2011) Mechanism of *Vibrio cholerae* Autoinducer-1 Biosynthesis. *ACS Chem Biol* 6:356–365. doi: 10.1021/cb1003652
- Wintgens JN (2004) Coffee: growing, processing, sustainable production. A guidebook for growers, processors, traders, and researchers. WILEY-VCH Verlag GMBH & Co. KGaA, Weinheim
- Yang J-Y, Lee H-S (2012) Acaricidal activities of the active component of *Lycopus lucidus* oil and its derivatives against house dust and stored food mites (Arachnida: Acari). *Pest Manag Sci* 68:564–572. doi: 10.1002/ps.2295
- Zeringóta V, Senra TOS, Calmon F, et al (2013) Repellent activity of eugenol on larvae of *Rhipicephalus microplus* and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res* 112:2675–2679. doi: 10.1007/s00436-013-3434-z

FIGURAS

Figura 1- Mortalidade acumulada de *Oligonychus ilicis* em 7 dias após aplicação tópica de óleos essenciais.

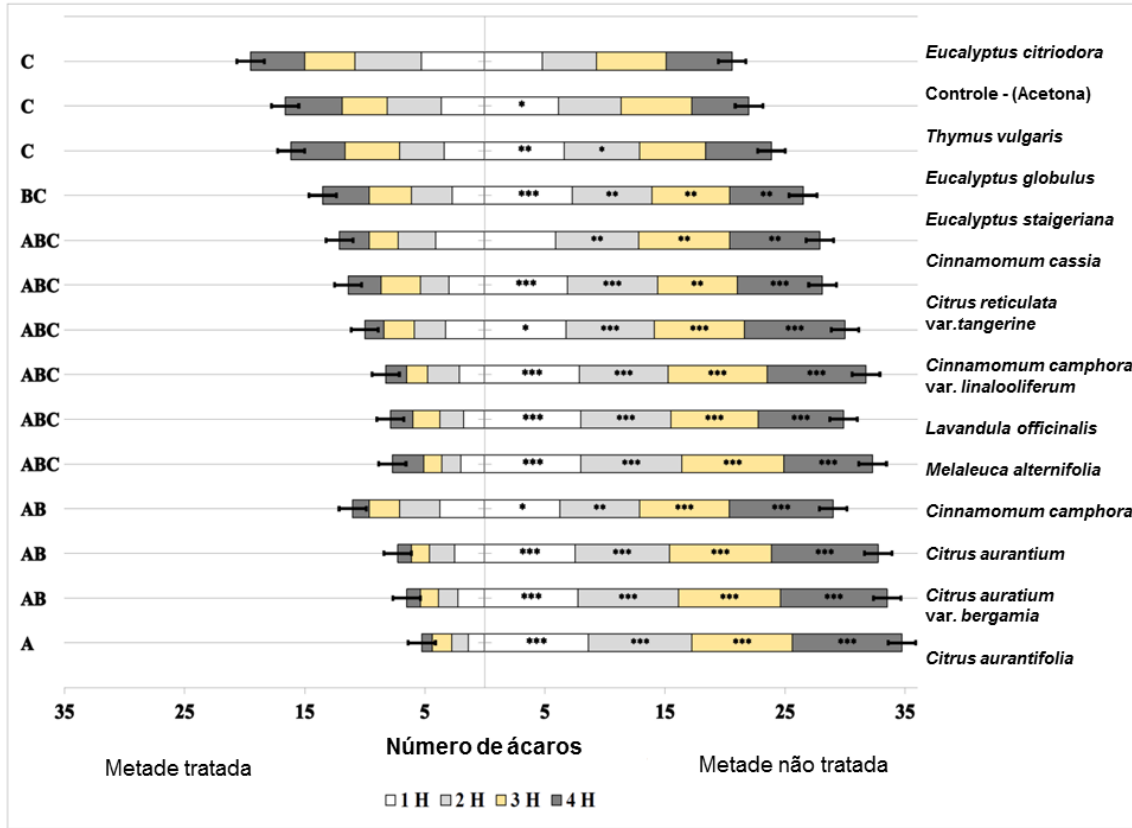


Formação de grupos de acordo com GLMM, teste da razão de verossimilhança; teste de Tukey ($p=0.05$).

Acetona = Controle negativo.

Abamectin Nortox = Controle positivo.

Figura 2- Bioensaio de repelência causada pela aplicação dos óleos essenciais para fêmeas adultas de *Oligonychus ilicis*.

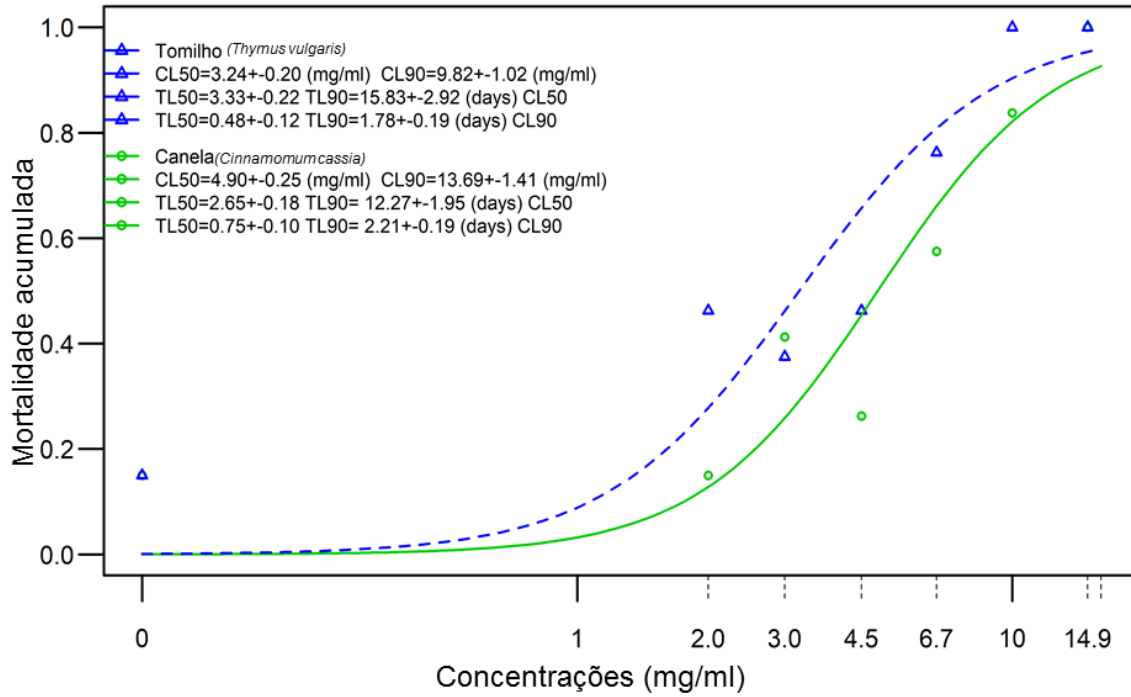


Número de fêmeas (media ± SE) na folha aplicada e não aplicada.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, de acordo com o GLM.

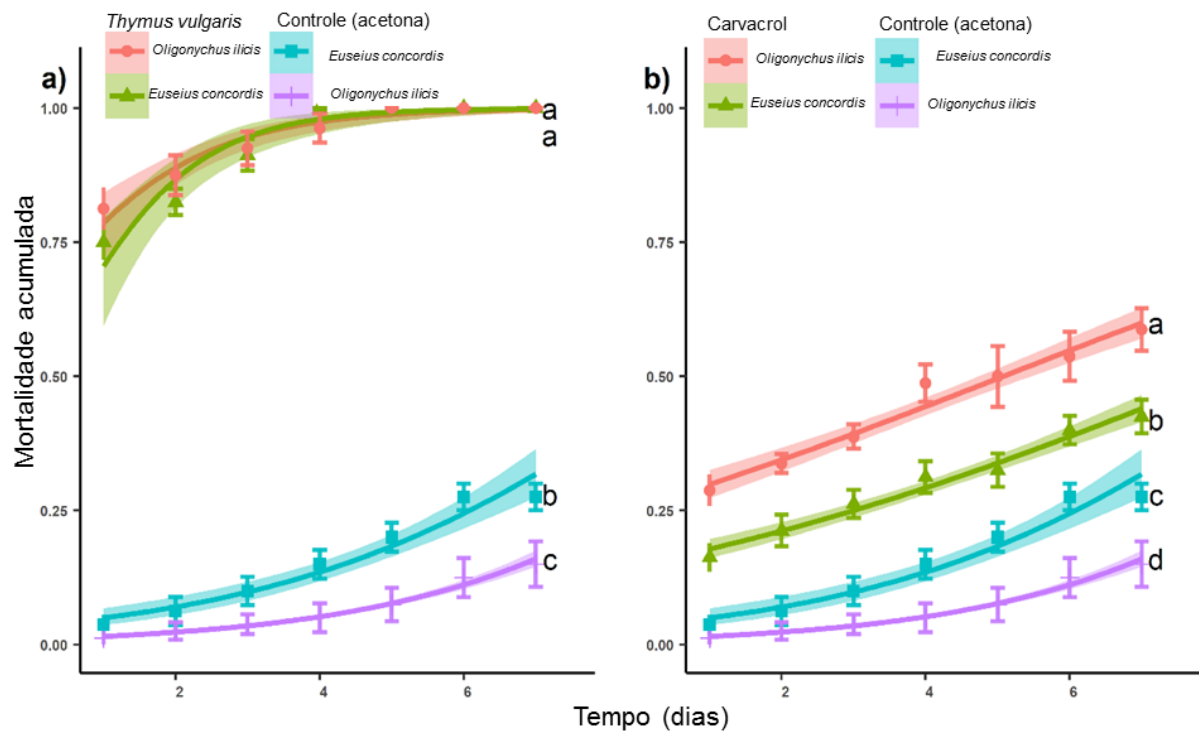
Mesma letra não há diferença significativa, teste de Tukey ($p=0.05$).

Figura 3- Curvas de concentração - mortalidade dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Cinnamomum cassia* (canela) para fêmeas de *Oligonychus ilicis*.



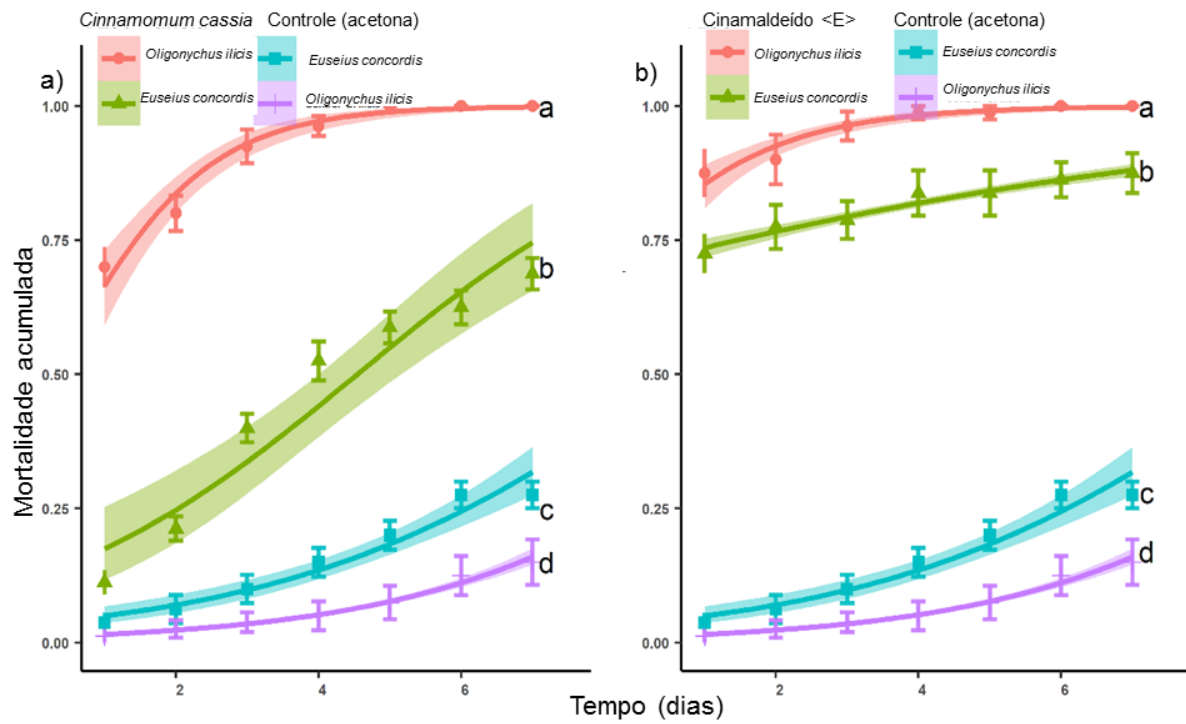
Ajuste de modelo log-logístico com dois parâmetros.

Figura 4- Mortalidade aos ácaros *Oligonychus ilicis* e *Euseius concordis* causada pelo óleo essencial de *Thymus vulgaris* e de seu respectivo composto majoritário carvacrol na concentração letal 90%. A – Desempenho do óleo de tomilho. B – Desempenho do composto majoritário carvacrol.



Mesma letra não há diferença significativa, teste de Teste de Tukey ($p < 0.05$).

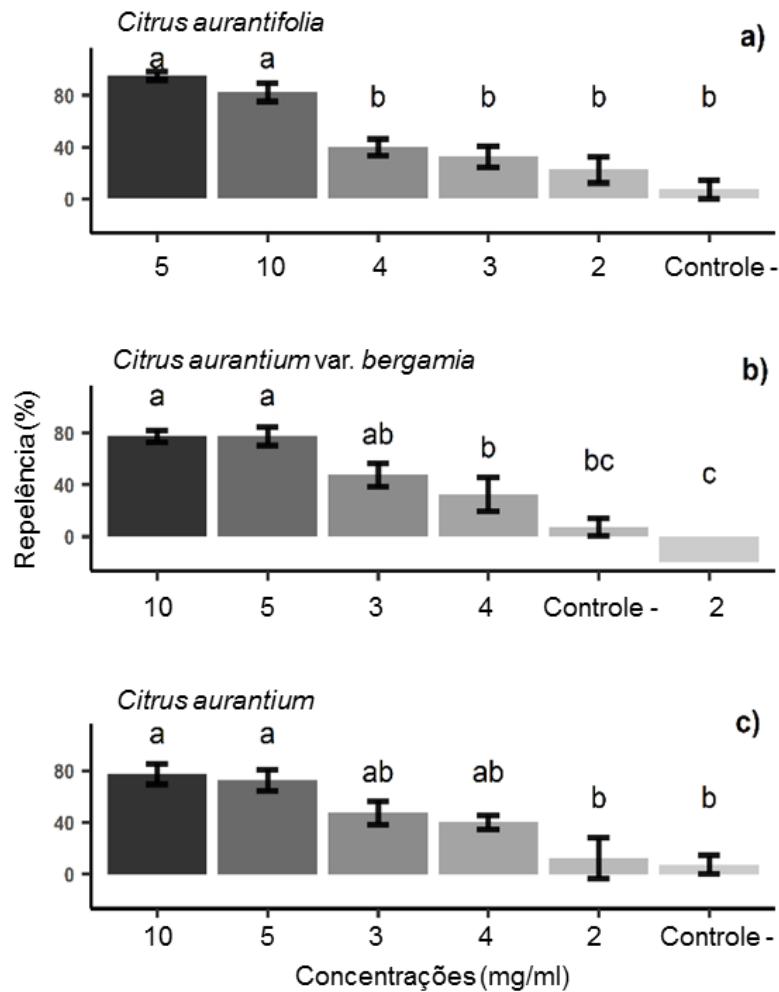
Figura 5- Mortalidade aos ácaros *Oligonychus ilicis* e *Euseius concordis* causada pelo óleo essencial de *Cinnamomum cassia* e de seu respectivo composto majoritário cinamaldeído <E> na concentração letal 90%. A – Desempenho do óleo de *Cinnamomum cassia*. B – Desempenho do composto majoritário cinamaldeído.



Mesma letra não há diferença significativa, teste de Teste de Tukey ($p < 0.05$).

MATERIAL SUPLEMENTAR

Material Suplementar 1 - Bioensaio de repelência empregando diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Citrus aurantifolia* (Lima destilada), *Citrus aurantium* var. *bergamia* (Bergamota) e *Citrus aurantium* (Petitgrain Paraguai).



a) ($\chi^2 = 95.45$, d.f. = 5, $p < 0.001$)

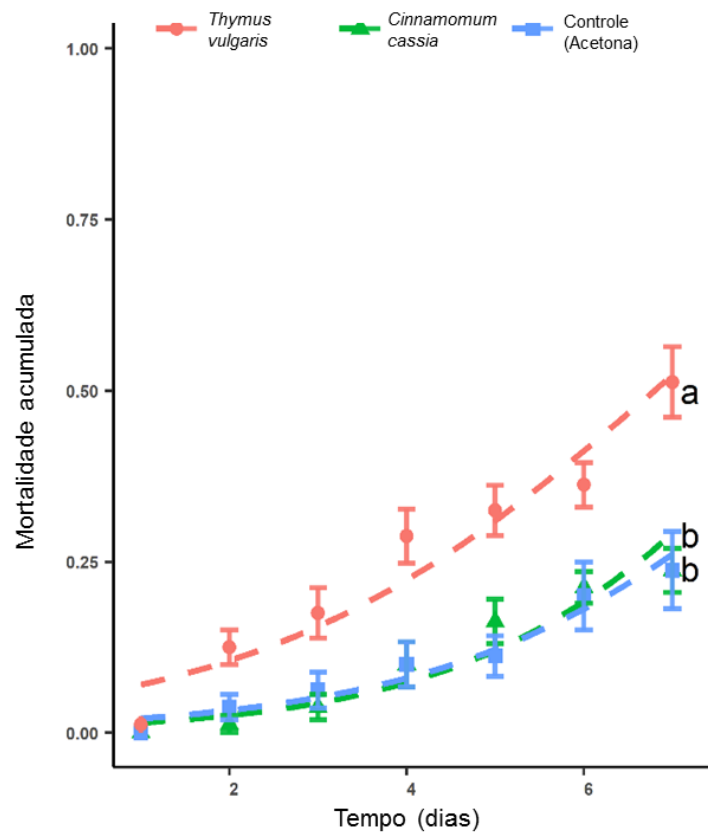
b) ($\chi^2 = 77.32$, d.f. = 5, $p < 0.001$)

c) ($\chi^2 = 41.75$, d.f. = 5, $p < 0.001$) de acordo com GLM, distribuição quasibinomial.

Controle - = Acetona.

Mesma letra não há diferença significativa, teste de Tukey ($p=0.05$).

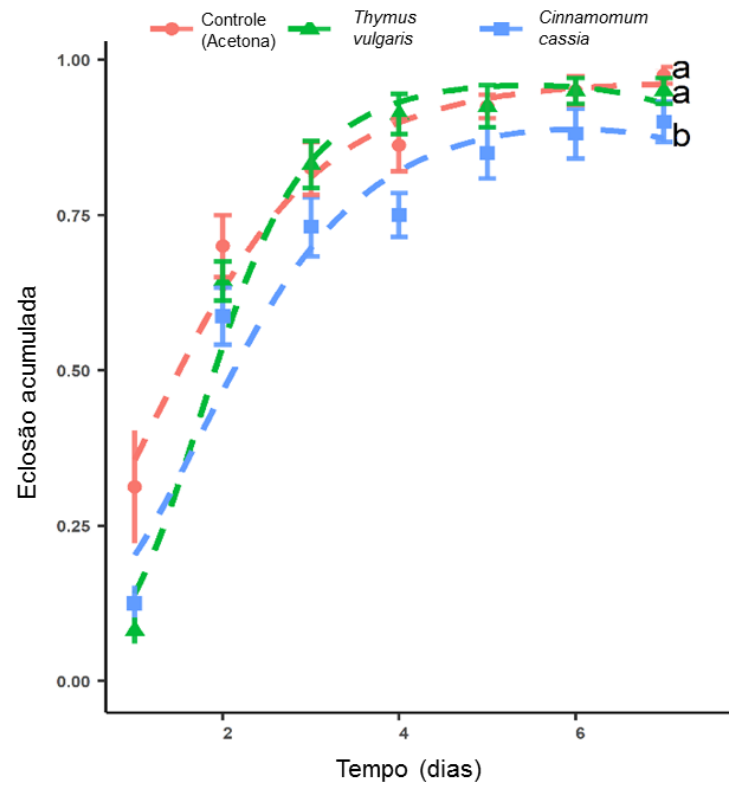
Material Suplementar 2 – Mortalidade acumulada em 7 dias de fêmeas de *Oligonychus ilicis* submetidas ao contato residual dos óleos de *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Cinnamomum cassia* (canela) na CL₉₀.



Curvas de mortalidade de acordo com GLMM, binomial e função de link Cloglog ($\chi^2 = 126.21$, d. f. = 2, $p < 0.001$);

Mesma letra não há diferença significativa, teste de Tukey ($p < 0.05$).

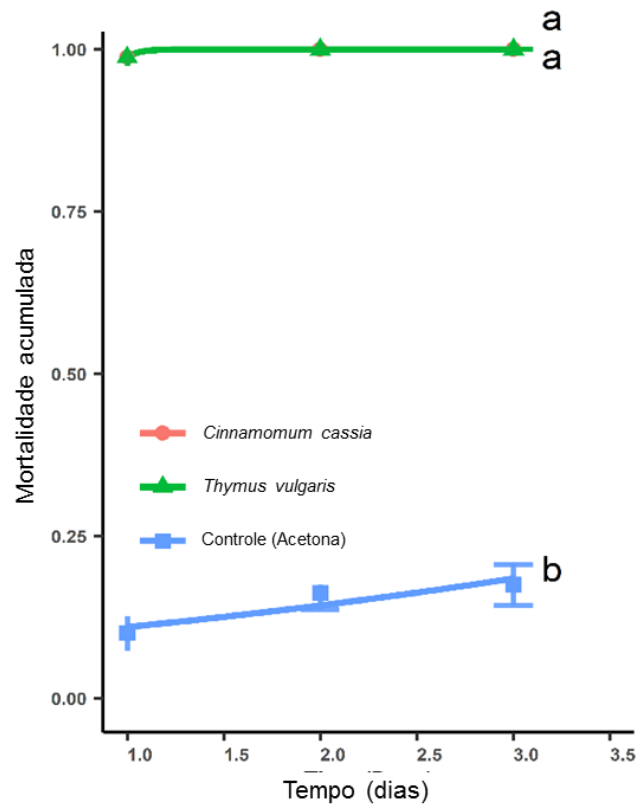
Material Suplementar 3 – Eclosão acumulada dos ovos em 7 dias de *Oligonychus ilicis* tratados com os óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Cinnamomum cassia* (canela) na CL₉₀.



Curvas de eclosão de larvas de acordo com GLMM, binomial e função de link Cloglog ($\chi^2 = 35.84$, d. f. = 2, $p < 0.001$);

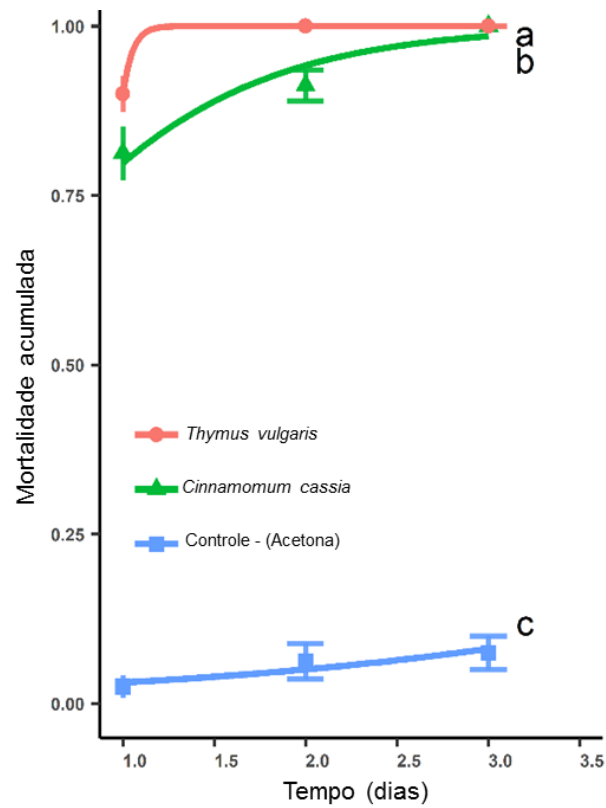
Mesma letra não há diferença significativa, teste de Tukey ($p < 0.05$).

Material Suplementar 4 – Mortalidade acumulada de fêmeas de *Oligonychus ilicis* em 3 dias, tratados com os óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Cinnamomum cassia* (canela) na CL_{50} por meio de fumigância.



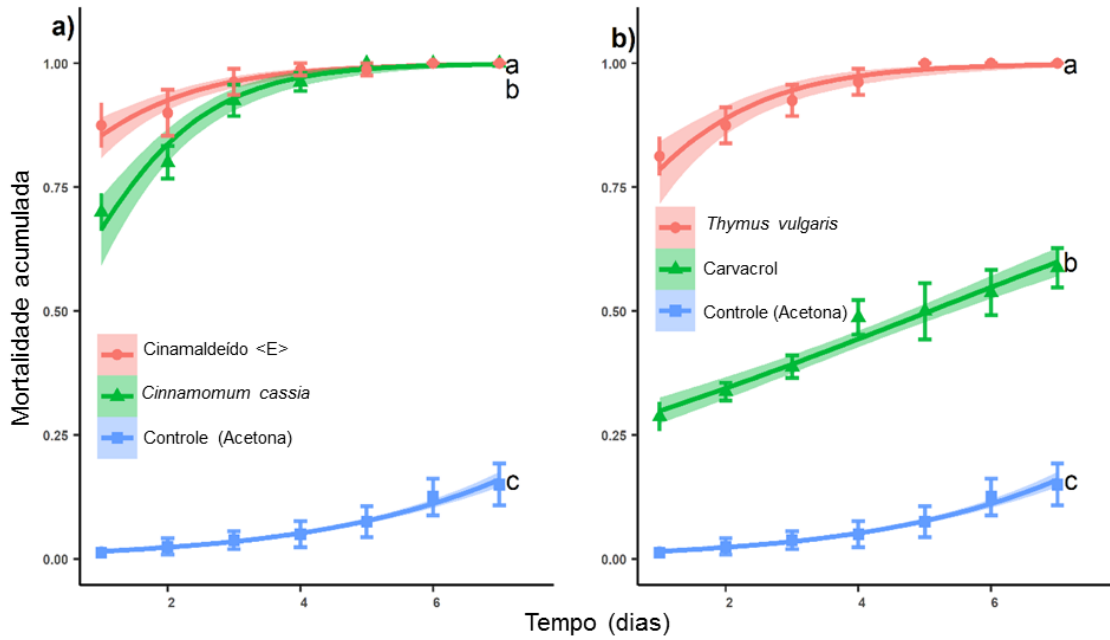
Mesma letra não tem diferença significativa, com teste de Tukey ($p < 0.05$).

Material Suplementar 5 – Mortalidade acumulada de imaturos de *Oligonychus ilicis* em 3 dias, tratados com os óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Cinnamomum cassia* (canela) na CL_{50} por meio de aplicação tópica.



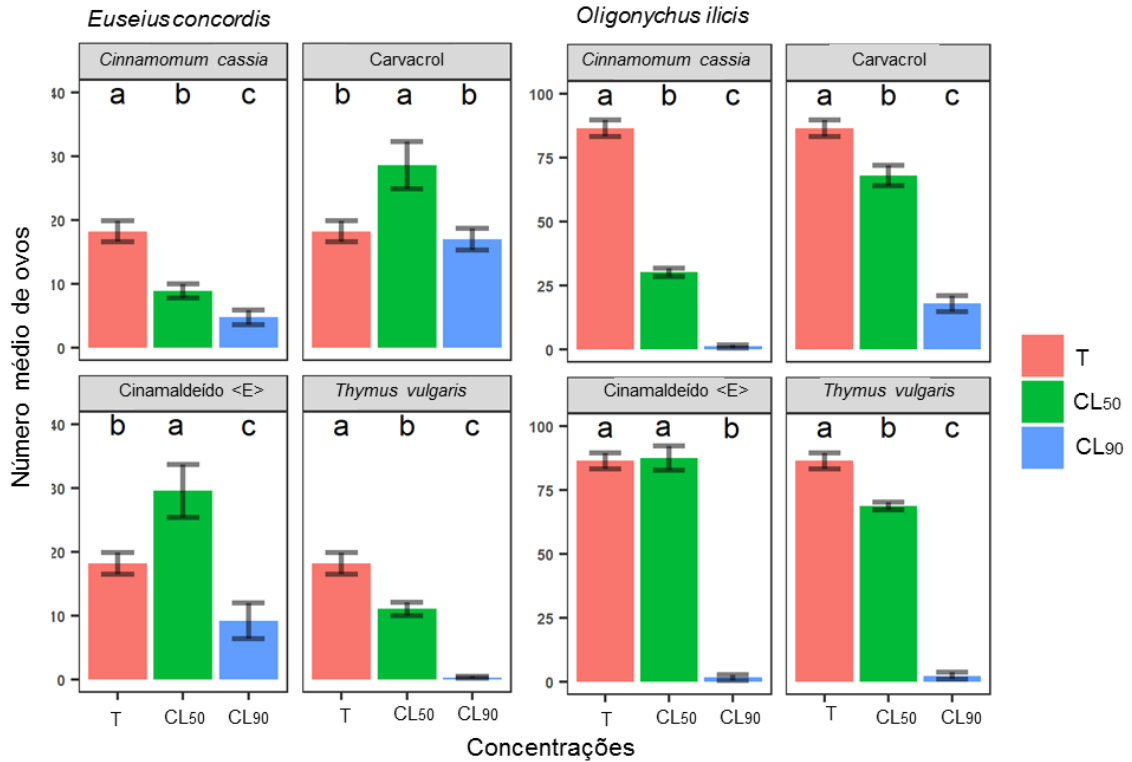
Mesma letra não tem diferença significativa, com teste de Tukey ($p < 0.05$).

Material Suplementar 6 – Mortalidade de fêmeas de *Oligonychus ilicis* após o tratamento com óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Cinnamomum cassia* (canela) e seus respectivos componentes majoritários carvacrol e cinamaldeído <E>.



Mesma letra não tem diferença significativa, com teste de Tukey ($p < 0.05$).

Material Suplementar 7 – Número de ovos colocados pelas fêmeas de *Oligonychus ilicis* e *Euseius concordis* num período de 7 dias, submetidas à aplicação da CL₅₀ e CL₉₀ dos óleos de *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Cinnamomum cassia* (canela) e seus respectivos compostos majoritários carvacrol e cinamaldeído <E>.



T = Testemunha negativa (acetona).

Mesma letra não tem diferença significativa, com teste de Tukey ($p < 0.05$).

APÊNDICE

Tabela 2: Composição relativa (%) dos componentes identificados na análise do óleo essencial de folhas e flores de tomilho branco (*Thymus vulgaris*)

Compostos	RI ^a	RI ^b	<i>Thymus vulgaris</i> *
NI	807	-	0.23
NI	815	-	0.28
α -Thujene	926	930	0.18
α -Pinene	933	939	3.06
α -Fenchene	947	952	0.97
β -Pinene	976	979	0.49
Myrcene	992	990	1.58
ρ -Mentha-1(7),8-diene	1005	1004	0.12
α -Terpinene	1017	1017	0.45
o-Cymene	1028	1026	36.20
Limonene	1030	1029	1.56
γ -Terpinene	1060	1059	7.31
Terpinolene	1089	1089	0.12
Linalool	1103	1096	6.76
Camphor	1145	1146	0.25
Isoborneol	1157	1160	0.42
Borneol	1167	1169	1.49
Terpien-4-ol	1178	1177	0.52
α -Terpineol	1193	1188	0.37
γ -Terpineol	1199	1199	0.29
Thymol	1290	1290	0.22
Carvacrol	1300	1299	26.07
NI	1318	-	0.14
β -Caryophyllene	1421	1419	1.64
α -Humulene	1455	1454	0.13
β -Bisabolene	1510	1505	0.25
Caryophyllene oxide	1586	1583	0.48
Total identificado (%)			98.58
NI (%)			3.35

RI^a: Valores dos índices de retenção relativa calculados usando a coluna RTX-5 (GCMS) e as séries de n-alcenos C8 – C19.

RI^b: Índices de retenção relativos publicados para a coluna apolar DB-51;

NI: não identificado;

*: médias de composições relativas calculadas usando a coluna OV-5 (GC-FID) e as séries de n-alcenos C8-C19.

Tabela 3: Composição relativa (%) dos componentes identificados na análise do óleo essencial de folhas, cascas e galhos de canela cássia (*Cinnamomum cassia*)

Compostos	RI ^a	RI ^b	<i>Cinnamomum cassia</i> *
Benzaldehyde	959	960	0.75
Phenyl ethyl alcohol	1114	1108	0.33
Borneol	1166	1169	0.13
Cinnamaldehyde <Z>	1220	1219	0.30
Anisaldehyde <o->	1244	1242	0.38
Cinnamaldehyde <E>	1282	1270	84.21
α -Copaene	1375	1376	0.38
Coumarin	1439	1434	1.31
Cinnamy acetate <E>	1449	1446	2.82
cinnamaldehyde<(E)>-p-methoxy	1537	1564	7.98
Total identificado (%)			98.59
NI (%)			1,41

RI^a: Valores dos índices de retenção relativa calculados usando a coluna RTX-5 (GCMS) e as séries de n-alcanos C8 – C19.

RI^b: Índices de retenção relativos publicados para a coluna apolar DB-51;

NI: não identificado;

*: médias de composições relativas calculadas usando a coluna OV-5 (GC-FID) e as séries de n-alcanos C8-C19.