



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO



DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ACARICIDA, PROPRIEDADE
ANTIOXIDANTE, INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE E TOXICIDADE DO
ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Sparattanthelium botocudorum*.**

MIRIAN LUZINETE DA SILVA

RECIFE/2024

MIRIAN LUZINETE DA SILVA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ACARICIDA, PROPRIEDADE
ANTIOXIDANTE, INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE E TOXICIDADE DO
ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Sparattanthelium botocudorum*.**

Projeto de Pesquisa apresentado por
Mirian Luzinete da Silva para avaliação da
disciplina de Trabalho de Conclusão de
Curso.

Professor (a) Orientador (a): Prof. Dr.
Claudio Augusto Gomes da Camara.

RECIFE/2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586c Silva, Mirian Luzinete

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ACARICIDA, PROPRIEDADE ANTIOXIDANTE, INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE E TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Sparattanthelium botocudorum* / Mirian Luzinete Silva. - 2024.
69 f.: il.

Orientador: Claudio Augusto Gomes da Camara.
Inclui bibliografia.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura em Química, Recife, 2024.

1. *Sparattanthelium botocudorum*. 2. óleo essencial. 3. *Tetranychus urticae*. 4. antioxidante. I. Camara, Claudio Augusto Gomes da, orient. II. Título

CDD 540

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

FOLHA DE APROVAÇÃO

MIRIAN LUZINETE DA SILVA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ACARICIDA, PROPRIEDADE
ANTIOXIDANTE, INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE E TOXICIDADE DO
ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Sparattanthelium botocudorum*.**

Aprovada em:05/03/2024.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Claudio Augusto Gomes da Camara – Orientador

UFRPE

Prof. Dr. João Rufino de Freitas Filho – 1º avaliador

UFRPE

Profa. Dra. Carolina Alves de Araujo – 2º avaliadora
EREM – Escola Padre Osmar Novais

Dedico este trabalho de conclusão de curso para todos aqueles que tem um sonho e por questões de dificuldades não conseguiram chegar, principalmente aqueles que tiveram seus sonhos colocados em segundo plano. A vida nem sempre nos permite vivenciar as oportunidades duas vezes. Eu conseguir porque existiram pessoas que me incentivaram desde familiares, amigos e principalmente professores, então dedico esse trabalho também a vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, porque dele por ele e para ele são todas as coisas. Agradeço toda a minha família que me deu apoio nessa minha trajetória acadêmica. Em especial destaco minha mãe Luzinete, tia Mariinha, irmã Natália e a minha sobrinha Nicolle. Agradeço também em especial as minhas primas que sempre estão comigo me incentivando e me apoiando Joelma e Alcilene.

Para este parágrafo eu quero expressar imensamente minha eterna gratidão ao meu tio Luiz José de Santana. Em muitos momentos da minha jornada acadêmica ele foi meu alicerce, foi ele que me levou durante as madrugadas para pegar o transporte público, me deu ajuda financeira em muitos momentos para que eu não desistisse do curso...é com lágrimas nos olhos que eu agradeço.

Agradeço ao meu orientador, professor Claudio Camara, por ter me concedido a oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa LPNBio e ao Prof. Dr. Marcilio por todos ensinamentos, conselhos e paciência para comigo durante todo processo desde os experimentos de bancada até a parte escrita. Também aproveito para agradecer a banca Carolina e o Prof. Rufino por ter aceitado ao convite.

Agradeço a todos os meus amigos da UFRPE e de Nazaré que estiveram nessa minha jornada científica em especial Almir, Antônio Carlos, Isabelle Farias, Isla, Maria Eduarda, Matheus, Elaine, Rodolfo (amiguinho do café), Marília (Maa 2), Lili Rosa, Wesley, José William, Emerson, Elilma.

Agradeço também a todos meus amigos e colega que eu fiz no laboratório, e que contribuíram com conhecimentos em especial a Alice (Mabelly), Mabson Henrique (Maaa), Yara Natane (Yarinha), Ariadna Ísis (companheira dos perrengues nas disciplinas), Lucas Vitor (Kauã), Tchiara (Mãe de Humberto), Carlos, Beatriz, Sérgio, Larissa, Sara, Daiane, Lídia, Talles e demais integrantes. Se eu esquecer de alguém me perdoem kkkk.

Enfim, agradeço aos meus professores que fizeram parte dessa jornada e que contribuíram para que ela acontecesse em especial, Renato Texeira (UFRPE), Prof. Rufino (URFPE), André Liesen (UFRPE), Prof. Fabiana Americo (Biologia) e Prof. Sueli Lemos (Ensino Médio).

"Devemos acreditar que somos talentosos para alguma coisa, e que essa coisa, a qualquer custo, deve ser alcançada." (Marie Curie)

RESUMO

Sparattanthelium botocudorum é uma espécie endêmica do Brasil, conhecida comumente como “Canela-brava” este arbusto está distribuído no litoral da Paraíba e no estado de Pernambuco. Mediante a escassez de estudos químico e biológico desta planta a pesquisa teve por objetivo determinar a composição química do óleo essencial das folhas bem como a avaliação das propriedades acaricida, antioxidante e toxicidade frente a *Artemia salina*. O óleo essencial, extraído das folhas frescas, através da técnica de hidrodestilação com auxílio de um aparelho do tipo Clevenger, teve um rendimento 0,40 % m/m e sua caracterização química, através da Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG-EM), forneceu como constituintes majoritários foram os sesquiterpenos o Germanecreno D com (38,28 %), *E*-Nerolidol (18,95 %), β -Cariofileno (14,49 %) e Bicyclogermacreno (14,18 %) e o único monoterpeno *Z*- β -Ocimeno identificado no OE com o percentual de 0,37 %. Os bioensaios de contato residual foram realizados, com objetivo de identificar os efeitos do óleo sobre o ácaro rajado, demonstraram uma toxicidade promissora. O bioensaio de contato residual, em que os ácaros são colocados em folhas já tratadas, apresentou a $CL_{50} = 16,5 \mu\text{L}/\text{mL}$. Além disso, o óleo também se mostrou com propriedade ovicida com uma CL_{50} estimada de $1,20 \mu\text{L}/\text{mL}$. E sobre a atividade de repelência o óleo apresentou um melhor potencial com a concentração de $CL_{30} 8,8 \mu\text{L}/\text{mL}$. Após avaliação da atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase verificou que o óleo essencial das folhas da *S. botocudorum* inibiu a enzima uma vez que a CL_{50} obtida foi de $2,9 \mu\text{g}/\text{mL}$ abaixo da CL_{50} do controle positivo que é $5,95 \mu\text{g}/\text{mL}$. Além disso, OE apresentou propriedade antioxidante pra o radical livre DPPH \cdot estimando uma $CE_{50} = 110,3 \mu\text{g}/\text{mL}$, enquanto para o radical livre ABTS \cdot^+ foi de $CE_{50} = 49,23 \mu\text{g}/\text{mL}$. Por fim, o óleo exibiu uma concentração de toxicidade de $700 \mu\text{g}/\text{mL}$ para o teste de toxicidade frente a *A. salina* que comparado com o que descrito na literatura não teve toxicidade. Diante disso, o estudo mostrou que óleo essencial apresentou efeitos semelhantes e promissores comparado a acaricidas já comercializados, e que os bioensaios demonstraram diferentes vias de atuação logo atuam com mecanismos distintos sobre praga e de apresenta propriedade biológica de atividade antioxidante.

PALAVRAS-CHAVE: *Sparattanthelium botocudorum*, óleo essencial, *Tetranychus urticae*, antioxidante.

ABSTRACT

Sparattanthelium botocudorum is a species endemic to Brazil, commonly known as “Canela-brava”, this shrub is distributed on the coast of Paraíba and in the state of Pernambuco. Due to the scarcity of chemical and biological studies on this plant, the research aimed to determine the chemical composition of the essential oil of the leaves as well as the evaluation of the acaricidal, antioxidant and toxicity properties against *Artemia salina*. The essential oil, extracted from fresh leaves, through the hydrodistillation technique with the aid of a Clevenger-type device, had a yield of 0.40% m/m and its chemical characterization, through Gas Chromatography coupled to the Mass Spectrometer (CG-MS), emerged as the majority constituents were the sesquiterpenes Germanecrene D with (38.28 %), E-Nerolidol (18.95 %), β -Caryophyllene (14.49 %) and Bicyclogermacrene (14.18 %) and the single monoterpene Z- β -Ocimene identified in the OE with a percentage of 0.37%. Residual contact bioassays were carried out, with the aim of identifying the effects of the oil on the two-spotted mite, and showed promising toxicity. The residual contact bioassay, in which the mites are arranged on already treated leaves, showed $LC_{50} = 16.5 \mu\text{L/mL}$. Furthermore, the oil also demonstrated ovicidal properties with an estimated LC_{50} of $1.20 \mu\text{L/mL}$. And regarding repellency activity, the oil showed a better potential with the LC_{30} concentration $8.8 \mu\text{L/mL}$. After evaluating the inhibition activity of the acetylcholinesterase enzyme, the essential oil from the leaves of *S. botocudorum* inhibited the enzyme, since the LC_{50} resulted was $2.9 \mu\text{g/mL}$ below the LC_{50} of the positive control, which is $5.95 \mu\text{g/mL}$. mL. Furthermore, OE presented antioxidant properties for the free radical DPPH \cdot , estimating an $EC_{50} = 110.3 \mu\text{g/mL}$, while for the free radical ABTS \cdot^+ it was $EC_{50} = 49.23 \mu\text{g/mL}$. Finally, the oil exhibited a toxicity concentration of $700 \mu\text{g/mL}$ for the toxicity test against *A. salina*, which compared to what described in the literature had no toxicity. Therefore, the study showed that the essential oil presented similar and promising effects compared to already commercialized acaricides, and that the bioassays presented different routes of action, therefore acting with different mechanisms on the pest and presenting a biological property of antioxidant activity.

KEYWORDS: *Sparattanthelium botocudorum*, essential oil, *Tetranychus urticae*, antioxidant.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Etapas do ciclo de vida do ácaro rajado	19
Figura 2. Ácaro rajado – <i>T. urticae</i> fêmea adulta.....	20
Figura 3. Exemplos de compostos presentes na composição química dos óleos..... essenciais.....	25
Figura 4. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.....	26
Figura 5. Biossíntese dos compostos terpênicos. Via clássica e via alternativa.....	28
Figura 6. <i>Sparattanthelium botocudorum</i>	31
Figura 7. Mapa de ocorrência da espécie <i>Sparattanthelium botocudorum</i>	31
Figura 8. Exemplos de compostos fenólicos que tem atividades antioxidantes.....	32
Figura 9. Reação entre o radical DPPH e o antioxidante genérico (A-H)	33
Figura 10. Estabilização do radical ABTS ^{•+}	34
Figura 11. Reação de hidrólise da enzima acetilcolinesterase.....	35
Figura 12. Mecanismo da ação dos organofosforados.....	36
Figura 13. Representação da via colinérgica normal e inibida na sinapse pelos pesticidas.....	37
Figura 14. Entrada do Jardim Botânico, PE.....	39
Figura 15. Aparelho do tipo Clevenger modificado.....	40
Figura 16. Cromatógrafo gasoso e espectrômetro de massas.....	41
Figura 17. Plantação (parte A) dos feijões de porcos (<i>Canavalia ensiformes</i> L)	42
Figura 18. Bioensaio Adulticida com OE da <i>S. botocudorum</i> sobre o ácaro rajado fêmeas.....	43
Figura 19. Bioensaio ovicida do óleo essencial sobre o ácaro rajado fêmeas adultas....	44
Figura 20. Bioensaio dupla escolha frente ao ácaro rajado fêmeas adultas.....	45
Figura 21. Preparação dos discos (parte A), ácaros rajados fêmeas adultas	46

Figura 22. Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres DPPH'	47
Figura 23. Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres ABTS ⁺	48
Figura 24. Teste de inibição da enzima acetilcolinesterase.....	49
Figura 25. Bioensaio de toxicidade frente a <i>Artemia salina</i>	50
Figura 26. Óleo essencial das folhas da <i>Sparattanthelium botocudorum</i>	51
Figura 27. Cromatograma do óleo essencial das folhas da <i>S. botocudorum</i>	52
Figura 28. Fios de sedas que são produzidos pelo <i>Tetranychus urticae</i>	55
Figura 29. Repelência (%) de adultos de Ácaro rajado (<i>Tetranychus urticae</i>).....	56
Figura 30. Percentual de mortalidade do óleo essencial das folhas de <i>S. botocudorum</i> ..	59

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1	Composição química do óleo essencial das folhas de <i>Sparattanthelium botocudorum</i>	52
Tabela 2	Toxicidade por contato residual (CL ₅₀ em µL/mL) dos inseticidas comerciais sobre o <i>Tetranychus urticae</i>	53
Tabela 3	Toxicidade por contato residual ovicida (CL ₅₀ em µL/mL) do óleo e inseticida comercial sobre o <i>T. urticae</i> .	54
Tabela 4	Atividade de inibição da enzima AChE (µg/mL) do óleo das folhas da <i>S. botocudorum</i>	57
Tabela 5	Atividade antioxidante (CE ₅₀ µg/ml) do óleo essencial das folhas da <i>S. botocudorum</i>	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CG	Cromatografia Gasosa
EM	Espectrometria de Massa
OE	Óleo Essencial
UV	Ultravioleta
<i>m/z</i>	Massa/carga
eV	Elétron-volt
LPNBio	Laboratório de Produtos Naturais Bioativos
CL ₅₀	Concentração Letal responsável por matar 50% da população
DL ₅₀	Dose Letal média para reduzir a população em 50%
CE ₅₀	Concentração efetiva média necessária para sequestrar 50% dos radicais
I.C. 95%	Intervalo de Confiança a 95%
IRAC	Comitê de ação à resistência a inseticidas
INCA	Instituto Nacional de Câncer
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
I.A	Ingredientes ativos
OMS	Organização Mundial de Saúde
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
BuCHE	Butirilcolinesterase
AChE	Acetilcolinesterase
OP	Organosfosforados
DNTB	Ácido ditionitrobenzóico
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 objetivo geral.....	18
2.2 objetivos específicos.....	18
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
3.1 <i>Tetranychus urticae</i> (ácaro rajado).....	19
3.2 Ciclo de vida.....	19
3.3 Resistência acaricida.....	21
3.4 Meios de controle da praga.....	22
3.4.1 Pesticidas.....	22
3.4.2 Classificações dos pesticidas.....	22
3.4.3 Pesticidas sintéticos e os impactos ambientais.....	23
3.5 Óleos essenciais.....	24
3.5.1 Definição.....	24
3.5.2 Composição química.....	24
3.5.3 Classificação química dos óleos essenciais.....	26
3.6 Método de extração.....	29
3.7 Espécie de planta estudada: <i>sparanthelium botocudorum</i>	30
3.7.1 Gênero e família.....	30
3.7.2 Classificações taxonômica - <i>sparanthelium botocudorum</i> mart.....	30
3.8 Atividade antioxidante.....	32
3.8.1 Teste – dpph· (radical livre).....	32
3.8.2 Teste – abts ⁺ (cátion radical).....	33
3.9 Atividade da acetilcolinesterase.....	35
3.9.1 Mecanismo de ação dos pesticidas sintéticos.....	35
3.9.2 Ação dos pesticidas organosforados.....	36
4 Toxicidade das <i>artemia salina</i> leach.....	38
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
5.1 Locais de realização da pesquisa.....	39
5.2 Coletas do material vegetal.....	39

5.3	Obtenção do óleo essencial	39
5.4	Identificação química por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (cg-em).....	41
5.5.1	Criação do ácaro <i>tetranychus urticae</i>	41
5.5.3	Bioensaio ovicida sobre os ovos do <i>t. Urticae</i>	43
5.5.4	Bioensaio de dupla-escolha	44
5.6	Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres dpph'	46
5.7	Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres abts ⁺⁺	46
5.8	Teste de inibição da enzima acetilcolinesterase	47
5.9	Metodologia de toxicidade frente a <i>artemia salina</i> l.....	49
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	50
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
6.1	Composição química do óleo da <i>sparattanthelium botocudorum</i>	51
6.2	Toxicidade do óleo de <i>sparattanthelium botocudorum</i> sobre as fêmeas e ovos do <i>t. urticae</i>	53
6.3	Atividade acetilcolinesterase	57
6.4	Atividade antioxidante.....	58
6.5	Toxicidade do óleo essencial e dos pesticidas comerciais frente a <i>artemia salina</i>	59
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

O *Tetranychus urticae* Koch, popularmente conhecido como ácaro-rajado, é reponsavel pelo ataque a diversos cultivos ao redor do mundo. O *T. urticae* é considerado um dos principais ácaros pragas do mundo, pois ataca cerca de 1.200 plantas diferentes, incluindo plantas de alto valor econômico como algodão, feijão, milho, soja, mamão, macieira, videira, alface, batata, berinjela, melancia, melão, morangueiro, pepino e tomateiro, além de plantas ornamentais (Guzzo *et al.*, 2016).

Dentre as muitas alternativas para o controle da *T. urticae*, o controle químico é o mais abordado, com a utilização dos inseticidas comerciais, principalmente aqueles a base de compostos das classes dos carbamatos e organofosforados. Porém, os usos indiscriminados desses acaricidas acaba contaminando o meio-ambiente e acarretam o surgimento de populações resistentes aos princípios ativos dos inseticidas (Bassos; Siqueira; Richards, 2021). Além disso, muitos desses acaricidas que são utilizados no controle da praga têm seus efeitos sobre organismos não-alvos, pois atingem mecanismos de ação de enzimas esterases, como a acetilcolinesterase (Knapik, 2018).

A aplicação dos inseticidas acima dos níveis recomendados não é permitida no Brasil, conforme o artigo 65 do Decreto 4.074/2002 que regulamenta a Lei de Agroquímicos. Porém, é comum a comercialização desses produtos sem nenhuma restrição e sem orientações para a utilização (Lopes e Albuquerque, 2018).

Desde 2008, o Brasil tem se destacado mundialmente como o país com maior consumo de inseticidas e esse aumento está atrelado ao desenvolvimento do agronegócio (INCA, 2019). Segundo a Embrapa (2021), no mundo, anualmente são usados aproximadamente 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos e o consumo anual no Brasil tem sido superior a 300 mil toneladas de produtos comerciais. Quando esses valores são expressos em quantidade de ingrediente ativo (i.a.), são consumidas anualmente cerca de 130 mil toneladas no país; representando um aumento no consumo de agrotóxicos de 700% nos últimos quarenta anos (Embrapa, 2021).

Como alternativa sustentável ao uso dos pesticidas sintéticos, a aplicação de produtos oriundos de plantas (extratos, pós, óleos essenciais e/ou compostos puros) vem ganhando espaço na formulação de inseticidas botânicos, pois minimizam os impactos ambientais reduzindo o acúmulo de resíduos no solo e são biodegradáveis (Costa *et al.*, 2019). Por apresentarem uma rápida volatilização, que minimiza a contaminação do meio ambiente e a

presença de resíduos, esses óleos essenciais vêm sendo cada vez mais investigados quanto a suas aplicações como inseticidas botânicos (Bizzo e Rezende, 2022).

Os óleos essenciais obtidos de plantas são relatados por apresentar uma gama de propriedades biológicas, tais como, atividade acaricida, antifúngicas, antimicrobianas, citostáticas, inseticidas, larvicidas, anti-helmínticas e carrapaticidas. O Brasil apresenta uma das maiores biodiversidades de plantas do mundo, distribuídas em 5 biomas diferentes (Caatinga, Amazônia, Pampas, Mata Atlântica e Cerrado). Apesar disso, apenas cerca de 20% foram estudadas química e biologicamente até o momento. Dentre essas espécies, podemos destacar aquelas pertencentes à família Hernandiaceae (Otoni, 2018).

A família Hernandiaceae é composta por cinco gêneros com cerca de 60 espécies, distribuídas em áreas subtropicais e tropicais. Dentre os gêneros conhecidos, apenas *Gyrocarpus*, *Hernandia* e *Sparattanthelium* ocorrem no Brasil (Pereira *et al.*, 2007).

O gênero *Sparattanthelium* é representado por 15 espécies, encontradas principalmente em áreas tropicais (Pereira *et al.*, 2007). Entre elas, as espécies *S. amazonum*, *S. uncigerum* e *S. botocudorum* são relatadas pela produção de compostos das classes dos sesquiterpenos e dos alcaloides encontrados em seus óleos essenciais e extratos, respectivamente (Almeida *et al.*, 1991). Em Pernambuco, a espécie *Sparattanthelium botocudorum* é facilmente encontrada em fragmentos de Mata Atlântica como a reserva florestal do Jardim Botânico do Recife. A espécie é altamente produtora de óleo essencial e a literatura relata para seu óleo propriedades fitotóxicas e citotóxicas (Dutra *et al.*, 2020).

Diante disso, o objetivo do presente trabalho é determinar a composição química do óleo das folhas de *Sparattanthelium botocudorum* que ocorre no estado de Pernambuco e avaliar seu potencial acaricida contra o *T. urticae*, bem como potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase, o seu potencial antioxidante e avaliar a toxicidade frente as artemias.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a composição química do óleo essencial das folhas de *S. botocudorum* e avaliar seu potencial acaricida, antioxidante e de inibição da enzima acetilcolinesterase e toxicidade sobre *Artemia salina*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter o óleo essencial das folhas *S. botocudorum* pela técnica de hidrodestilação;
- Identificar a composição química do óleo essencial *S. botocudorum* pela técnica de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM);
- Avaliar a atividade acaricida (contato residual adulticida e ovicida) estimando a CL₅₀ do óleo *S. botocudorum* sobre a praga *T. urticae*;
- Avaliar o potencial de inibição para a enzima acetilcolinesterase do óleo *S. botocudorum*;
- Avaliar o seu potencial de repelência sobre a praga *T. urticae*;
- Avaliar a atividade antioxidante (sequestro de radicais livres ABTS^{•+} e DPPH[•]) do óleo essencial da *S. botocudorum*;
- Estimar a letalidade do óleo essencial da *S. botocudorum* frente à náuplios de *Artemia salina*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 *Tetranychus urticae* (ÁCARO RAJADO)

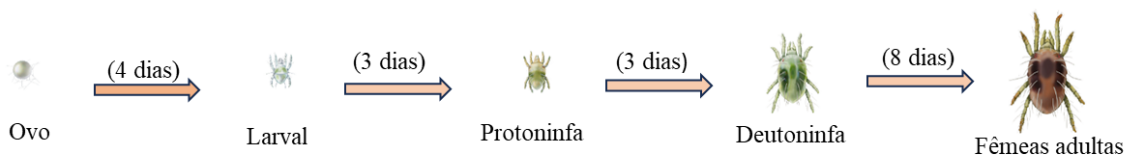
No Brasil, encontram-se apenas seis espécies de ácaros de importância econômica. Dentre essas, apenas o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch, 1836), (Acari: Tetranychidae) é considerado uma das principais pragas agrícolas do mundo. Os primeiros relatos da praga apareceram nas décadas de 20 e 30 em diferentes cultivos no Estado da Bahia (Moraes e Flechtmann, 2008).

Com comportamento cosmopolita e polífago, ele é hospedeiro de diversas culturas de alto valor econômico como algodão, feijão, milho, soja, mamão, macieira, videira, alface, batata, berinjela, melancia, melão, morango, pepino e tomate, além de plantas ornamentais (Moraes e Flechtmann, 2008). Distribuído de Norte ao Sul do Brasil, o ácaro rajado, pode causar prejuízos tanto no campo quanto em ambientes protegidos, como em casas de vegetação, em que as condições são de umidade baixa e temperatura elevada, ideais para seu desenvolvimento (Boom, *et al.*, 2003; Fadini *et al.*, 2004).

3.2 Ciclo de vida

Cada fêmea do ácaro rajado pode ovipositar mais de 100 ovos durante seu período fértil. A ovoposição é seguida pela eclosão das larvas e desenvolvimento das fases de protoninfa, deutoninfa e adulto, esse processo pode durar até 12 dias (Figura 1). Na fase adulta, o ácaro pode viver por até 25 dias, dependendo das condições de disponibilidade de alimentos (Lopes *et al.*, 2023).

Figura 1. Etapas do ciclo de vida do ácaro rajado.



Fonte: Autora (2024).

Segundo Santamaria *et al.*, (2020), as fêmeas do *T. urticae* podem produzir mais de 100 ovos de tamanhos diferentes dependendo do sexo do embrião, uma vez que esta espécie se reproduz por arrenotoquia, uma forma de partenogênese na qual os machos se desenvolvem a

partir de ovos não fertilizados, enquanto as fêmeas diploides derivam de ovos fertilizados. Além disso, no atual cenário de alterações climáticas associadas a condições secas e quentes, o *T. urticae* encurta seu ciclo de vida produzindo mais gerações por ano e ampliando a gama de plantas hospedeiras.

Em detrimento ao seu rápido desenvolvimento, curto tempo de geração e alta taxa reprodutiva, os danos causados pela praga *T. urticae* atingem níveis populacionais prejudiciais muito rápido. Isso faz com que tenha como resultado o declínio de forma igualitária para a vida das plantas hospedeiras. A reprodução do *T. urticae* é muito sensível a uma ampla variedade de fatores intrínsecos e condições extrínsecas utilizadas em seu controle biológico (Awad *et al.*, 2022; Susurluk, 2022).

Uma única fêmea (Figura 2), não fertilizada pode dar origem a uma nova população de *T. urticae*. Produzindo novas gerações de ácaros que poderão então inseminar-se e que a partir daí já poderá produzir novas gerações. É justamente essa capacidade que é vista como um dos fatores determinantes para a rápida seleção de linhagens de ácaros resistentes aos acaricidas convencionais (Moraes e Flechtmann, 2008).

Figura 2. Ácaro rajado – *T. urticae* fêmea adulta.



Fonte: Autora (2024).

Os níveis populacionais do ácaro rajado tolerados por algumas espécies, como plantas ornamentais em casa de vegetação são extremamente baixos. Estudos feitos em uma plantação de roseiras, identificaram que a presença de cinco fêmeas adultas de *T. urticae* em folhas novas resultaram em danos visíveis após um dia. Algumas dessas infestações acontecem devido ao

fato de que no estágio adulto o ácaro normalmente suga a seiva da epiderme das folhas inferiores, o que acaba provocando o amarelecimento e descoloração Fadini *et al.*, (2004).

Outra consequência é que em casos de infestações severas isso pode gerar meios de infestações secundárias como, por exemplo, por fungos, bactérias e vírus que frequentemente causam danos adicionais consideráveis. Para combater esses danos ocasionados pelos ácaros na agricultura, o controle utilizado por acaricidas químicos gera diversos problemas devido ao seu uso indiscriminado, ciclo de vida curto, população com alto crescimento e à sua capacidade de desenvolver rapidamente resistência a mais de 80 acaricidas com algumas aplicações. Consequentemente, a extensão do acaricida químico utilizado no controle pode compreender a comercialização de sistemas agrícolas e induzir impactos nocivos ao meio ambiente e à saúde humana, bem como, a organismos não alvo, como é o caso das abelhas (Farouk *et al.*, 2021).

3.3 Resistência acaricida

Desde a primeira ocorrência em 1985 de casos referente ao ácaro rajado, muitos organismos fitófagos, em especial a espécie *T. urticae*, conseguiram adquirir mecanismos que servem de defesa contra as plantas por meio de três estratégias principais: evitação, resistência metabólica e supressão. A evitação consiste em defesas induzidas pelas próprias plantas que acarreta numa mudança comportamental, enquanto as outras duas estratégias fazem a praga lidar com os metabólitos vegetais ingeridos. A resistência metabólica contra as moléculas que são tóxicas é desenvolvida por meio do mecanismo da insensibilidade ao local alvo ou de mecanismos de desintoxicação que implicam em modificação, degradação e/ou secreção de metabólitos (Castro, 2018; Dawkar *et al.*, 2013). E por último, a supressão é um tipo de defesa alcançada por meio da sabotagem de aterfatos moleculares da planta hospedeira. Logo, os ácaros fitófagos desenvolvem moléculas que serão especializadas e secretadas dentro ou sobre o seu hospedeiro para interferir de diferentes maneiras na capacidade do seu hospedeiro de se defender (Kant *et al.*, 2015).

O Ácaro rajado é um dos exemplos que mais causam prejuízos por ser polífago com alta capacidade de adaptação a novas plantas e de rápido desenvolvimento de resistência a pesticidas comerciais, que é atribuído à combinação das três estratégias, já citadas, que juntas maximizam para esse desempenho. A própria forma com que os ácaros se alimentam serve como um mecanismo de defesa, eles tentam evitar a indução das defesas das plantas. O estilete, contido no aparelho bucal do ácaro, penetra os estômatos ou células do tecido epidérmico atingindo as

células únicas do mesofilo, evitando danos epidérmicos, o que minimiza a detecção do ataque, atrasando assim a resposta da planta (Bensoussan *et al.*, 2016).

3.4 MEIOS DE CONTROLE DA PRAGA

3.4.1 Pesticidas

Os primeiros pesticidas desenvolvidos foram à base de compostos de origem natural que apresentavam alta toxicidade, tais como, o piretróides, nicotina e alguns elementos inorgânicos como o mercúrio e o enxofre (Jonatan, 1989). Segundo Kumar *et al.*, (2021) os pesticidas são uma mistura de substâncias destinadas a controlar, atenuar ou suprimir o desenvolvimento de pragas (organismos indesejáveis). Essas pragas geralmente são patógenas de plantas, nematoides, micro-organismos e insetos que competem com a alimentação humana e são responsáveis pela transmissão de doenças e pela destruição de plantações. Outra definição sobre os pesticidas é dada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), na qual afirma que pesticidas são considerados uma classe especial de compostos químicos e que sua utilização é para matar uma ampla gama de pragas que incluem desde insetos, ervas daninhas e roedores.

3.4.2 Classificações dos pesticidas

Com relação aos pesticidas, eles podem ser classificados amplamente com base na sua origem, como naturais, sintéticos, semissintéticos e os biopesticidas. De acordo com Campos *et al.*, (2016), os pesticidas que são isolados a partir de fontes naturais, como plantas ou micróbios, são denominados como pesticidas naturais. Esses tipos de pesticidas não são tóxicos para os mamíferos e, além disso, são biodegradáveis. Pode-se citar os que são mais comumente usados, sendo eles: piretróides, rotenona e nicotina.

Já se tratando dos biopesticidas, podemos denominar como aqueles que são produzidos naturalmente por organismos vivos, como micro-organismos, ervas, plantas etc. Em comparação aos pesticidas sintéticos estes apresentam uma maior segurança, pois apresentam menor toxicidade para os sistemas vivos, ou seja, contribuem como sendo um dos mecanismos de defesa contra as infestações das pragas nos campos agrícolas sendo vital para um rendimento das culturas (Natal, 2021). Estas substâncias naturais conseguem remover de forma eficiente a praga alvo e proporcionam muitos outros benefícios, por exemplo, ao utilizar esses biopesticidas, minimizam os danos causados pela poluição ambiental (Gartia *et al.*, 2019).

Além dos que já foram citados, temos os semissintéticos e os sintéticos. Os semissintéticos são definidos como substâncias biologicamente ativas que sofreram

modificação molecular, sendo uma das principais estratégias, visar o melhoramento dos efeitos biológicos e reduzir eventuais efeitos prejudiciais. Já os sintéticos, definem-se como sendo os artificiais e que são formados pela modificação de minerais ou compostos químicos. Dentre os tipos de pesticidas que são mais utilizados no mundo, os sintéticos se destacam. Estudos demonstraram que os pesticidas orgânicos e inorgânicos sintéticos são muito estáveis na natureza e podem acumular-se ao longo do tempo, ou seja, os organoclorados, organofosforados, piretróides e carbamatos (Jayaraj *et al.*, 2016).

3.4.3 Pesticidas sintéticos e os impactos ambientais

Apesar do uso dos pesticidas serem vistos como um dos aspectos pertinentes das atividades agrícolas modernas, o uso indiscriminado dos pesticidas sintéticos vem ganhando cada vez mais atenção. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) estima que existem mais de 4.000 aditivos usados em formulações de pesticidas disponíveis comercialmente, com 374 deles designados como “tóxicos” pelas leis federais dos EUA (Weinhold, 2010). Agora em relação ao Brasil, segundo a Embrapa (2021), anualmente são usados no mundo aproximadamente 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos e o consumo anual de agrotóxicos no Brasil tem sido superior a 300 mil toneladas de produtos comerciais. Expresso em quantidade de ingrediente-ativo (i.a.), são consumidas anualmente cerca de 130 mil toneladas no país; representando um aumento no consumo de agrotóxicos de 700% nos últimos quarenta anos, enquanto a área agrícola aumentou 78% nesse período (Embrapa, 2021).

Esses produtos químicos protegem as plantações de uma variedade de insetos, pragas e entre outros, como já foi mencionado. Com o passar dos anos, a sua aplicação aumentou dramaticamente o que ocasionou diversos problemas no meio ambiente e na saúde humana, podendo citar os casos de doenças pulmonares, da próstata, pele e garganta, cancro, leucemia e hipertensão. A própria legislação se tornou mais restritiva sobre o uso de pesticidas sintéticos devido ao aumento da resistência nas populações das pragas. A maioria desses inseticidas afetam o sistema nervoso em vários locais-alvo, eles podem interferir no sistema de transporte de membrana de íons sódio, potássio, cálcio ou cloreto, ocorrendo a inibição das atividades enzimáticas seletivas envolvidas na transmissão química nas terminações nervosas (Sharma *et al.*, 2020).

Além disso, a maioria dos pesticidas sintéticos são tóxicos e levam mais tempo para se degradar no meio ambiente, o que acaba gerando implicações ambientais imensas devido ao uso indiscriminado. Sendo assim, é imprescindível a substituição deste tipo de produtos nocivos

por compostos mais sustentáveis que sejam biodegradáveis e que continuem a desempenhar o papel de proteção das colheitas. Atualmente, a procura por uma alternativa para essa problemática vem tendo um crescimento significativo e a avaliação de inseticidas botânicos como alternativa no controle de pragas tem sido vista como importante porque estes possuem menos efeitos adversos para os organismos não-alvo, ecossistemas e saúde humana (Kumar *et al.*, 2021; Sain *et al.*, 2019).

Portanto, investigar como os muitos componentes dos óleos interagem com esses alvos moleculares pode ser a chave para entender por que alguns exibem propriedades inseticidas e larvicidas. Além do grande conjunto de evidências experimentais que sugerem as propriedades desses óleos, precisam ser esclarecidos ou melhor compreendidos os seus mecanismos bioquímicos de ação.

3.5 ÓLEOS ESSENCIAS

3.5.1 Definição

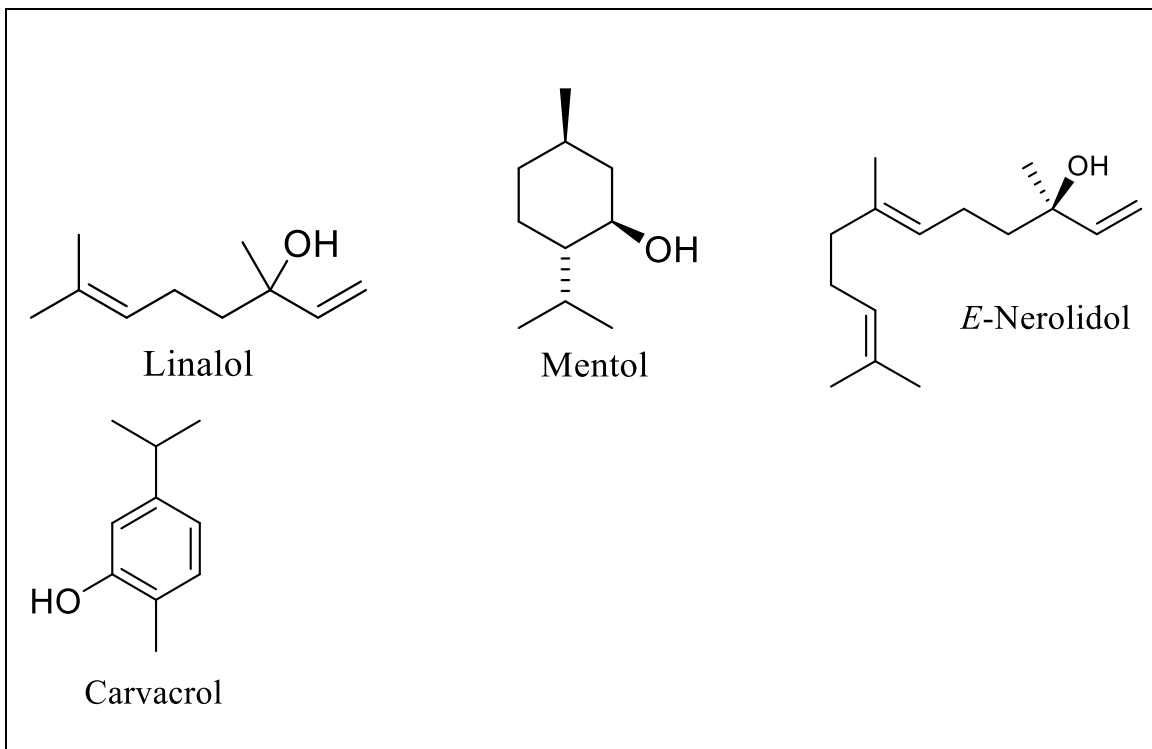
Segundo Simões *et al.*, (2004), os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, podendo ser chamados de óleos essenciais, óleos etéreos ou essências. Essas denominações derivam de algumas de suas características físico-químicas, como por exemplo, a de serem geralmente líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente, advindo, daí, a designação de óleo. Entretanto, sua principal característica é a volatilidade, diferenciando-se, assim, dos óleos fixos que são misturas de substâncias lipídicas, obtidos geralmente de sementes. Outra característica importante é o aroma agradável e intenso da maioria dos óleos voláteis, sendo, por isso, também chamados de essenciais. Além disso, eles são solúveis em solventes orgânicos apolares, como por exemplo éter. Em água, os óleos voláteis apresentam solubilidade limitada, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são denominadas como hidrolatos.

3.5.2 Composição química

Os óleos são interessantes por apresentarem uma diversidade de atividades biológicas e geralmente são constituídos por hidrocarbonetos e compostos oxigenados. Com relação aos hidrocarbonetos, eles podem ser nomeados como monoterpenos ($C_{10}H_{16}$), diterpenos e sesquiterpenos ($C_{15}H_{24}$), e sobre os componentes oxigenados podem ser encontradas funções orgânicas, tais como álcoois, aldeídos alifáticos e ésteres. Os monoterpenos, que estão presentes

na composição dos óleos (Figura 3), apresentam uma variedade em suas estruturas químicas entre si. Através dessa variedade estrutural eles podem ser divididas em oito grupos: (1) álcoois acíclicos, como o linalol, geraniol e citronelol; (2) álcoois cíclicos, como o mentol, isopulegol e terpeniol; (3) álcoois bicíclicos, como o borneol e verbenol; (4) compostos fenólicos, como o timol e carvacrol; (5) cetonas, como a carvona, mentona e tujona; (6) aldeídos, como o citronelal e citral; (7) ácidos, como ácido crisantêmico e (8) éteres, como o cineol (Lyu *et al.*, 2019).

Figura 3. Exemplos de compostos presentes na composição química dos óleos essenciais.



Fonte: Autora (2024).

Embora os óleos apresentem essa diversidade na sua composição química, os compostos principais ou os compostos majoritários são encontrados em concentrações elevadas variando entre 20 - 85% da composição química do óleo. Por outro lado, os demais compostos que são encontrados em percentuais mínimos são desconsiderados quando é realizado a identificação da composição química dos óleos. Na literatura já se tem dados sobre as atividades biológicas referente a composição química dos óleos essenciais, como antimicrobiana, antibacteriano, antifúngico, antimfo, antiviral, controle de pragas, repelentes de insetos entre outras, são as que podem ser destacadas (Dimas e Dimas, 2015; Amoriti, 2013).

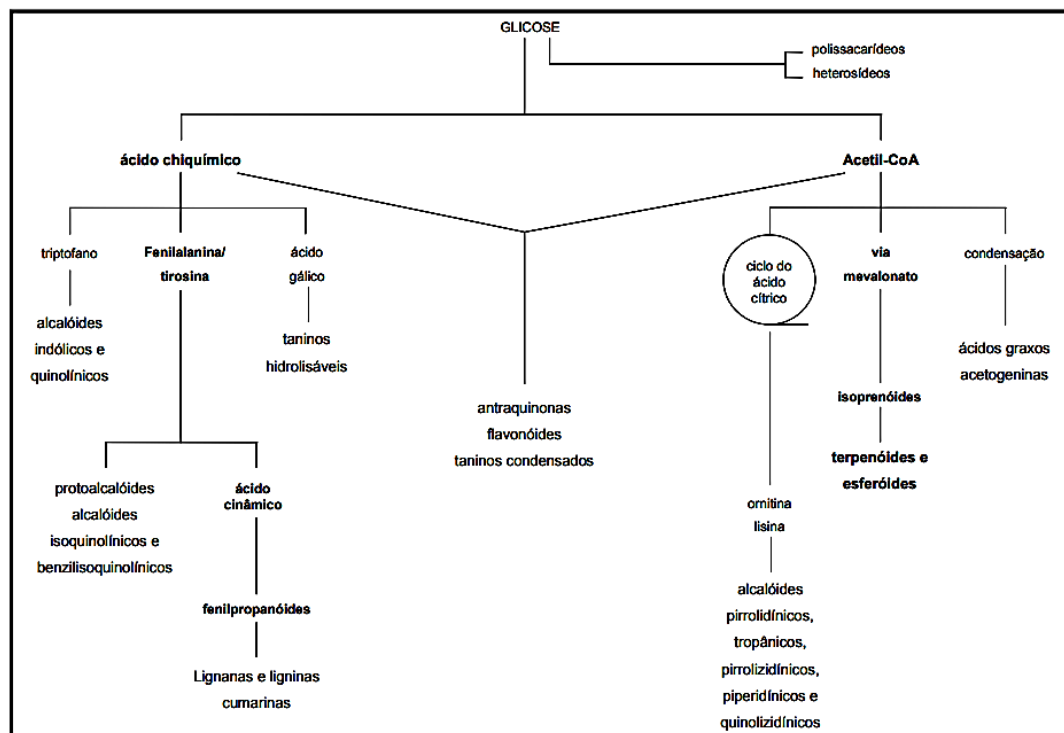
Os óleos são biossintetizados em diferentes órgãos vegetais como metabólitos secundários, como, por exemplo, flores, ervas, brotos, folhas, frutas, galhos, casca, raspas,

sementes, raízes etc. Esses compostos podem ser liberados na forma de aroma através das células epidérmicas das pétalas ou acumulados e armazenados em diferentes partes anatómicas da planta como, por exemplo, células secretoras intracelulares, tricomas glandulares e, por fim, canais secretores (Simões *et al.*, 2007). A variação da composição química desses óleos é decorrente das influências genéticas, geográficas, sazonais, climáticas ou outras. Uma outra característica que está atrelada a limitação do uso dos óleos é a fácil degradação, por oxidação, aquecimento e luz se não estiverem protegidos de fatores externos (Simões *et al.*, 2007). Contudo, uma das soluções para essa problemática é a proteção dos óleos por meio de encapsulamento, na qual prolonga a sua ação e possibilita uma liberação controlada (Asbahani *et al.*, 2015).

3.5.3 Classificação química dos óleos essenciais

Metabólitos secundários em plantas são classificados de forma geral em alcalóides, compostos fenólicos e terpenóides. A classificação dada por Simões *et al.*, (2004), afirma que quimicamente a grande maioria dos óleos voláteis é constituída de derivados fenilpropanóides ou de terpenóides, sendo os terpenóides os que mais se destacam. O ciclo biossintético está representado na Figura 4.

Figura 4. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.

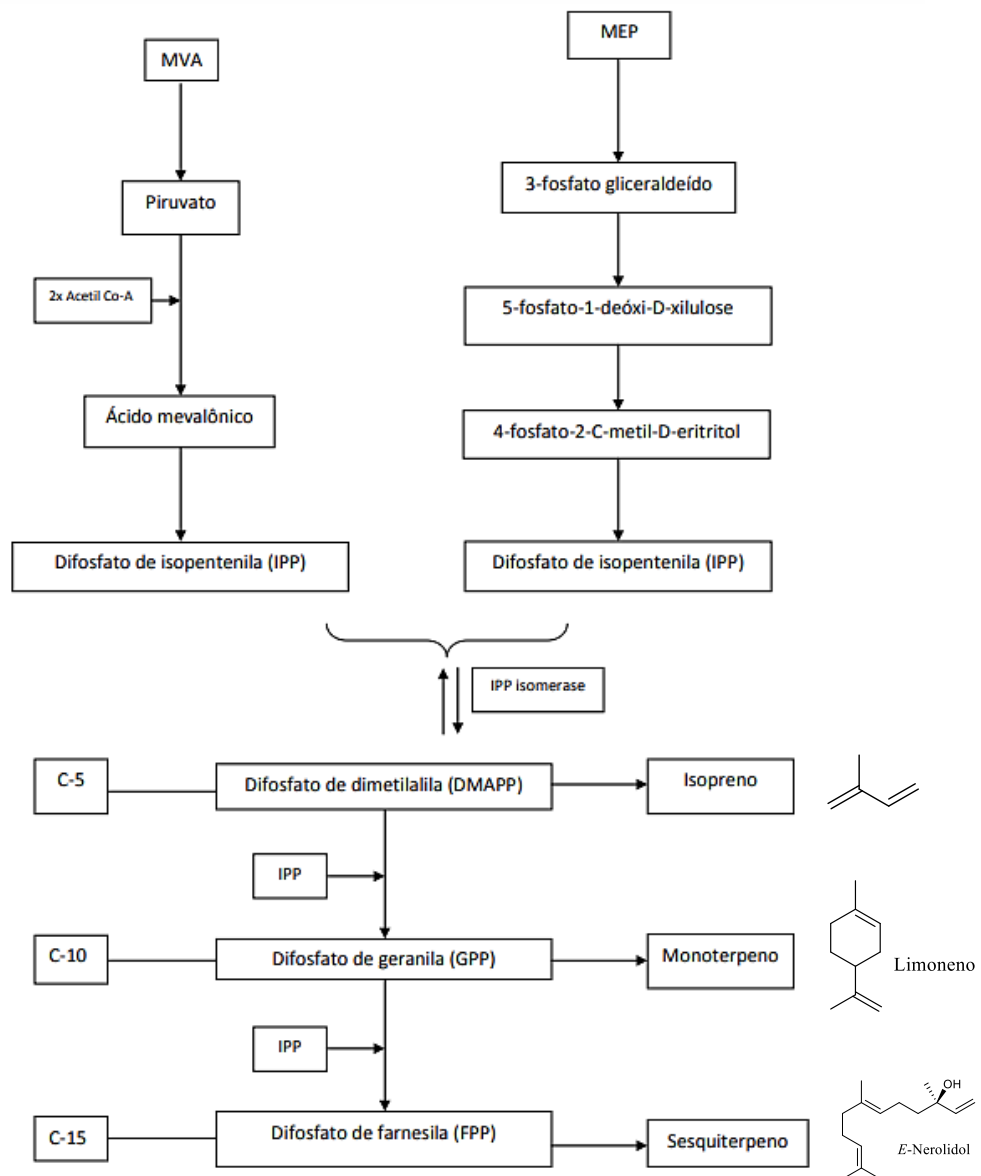


Fonte: Souza (2009).

Os fenilpropanóides são formados a partir do ácido chiquímico, que forma as unidades básicas dos ácidos cinâmicos e *p*-cumárico. Essa classe tem como precursores diferentes aminoácidos, entre eles a fenilalanina, a tirosina e a dihidroxifenilalanina, que também são originadas do ácido chiquímico. Estruturalmente, eles são formados por um anel benzênico ligado a cadeia lateral com três carbonos, em que possui uma dupla ligação e podendo apresentar um grupo funcional com oxigênio. Os principais fenilpropanóides conhecidos são: eugenol, elemicina e dilapiol (Alves *et al.*, 2022).

Em relação aos terpenóides, podem ser definidos como produtos do metabolismo secundário que são encontrados nos pêlos glandulares ou nas cavidades secretoras da parede celular vegetal das folhas, caules, cascas, flores, raízes e frutos. A composição dos terpenóides apresentam uma grande variedade na natureza onde estão bem distribuídos. Assim, como consequência dessa diversidade, eles desempenham importantes funções, tais como, fisiológica, metabólica, de comunicação e defesa (Natal, 2021). Esses compostos químicos são modificados a partir de terpenos (C_5H_8)_n, cuja unidade básica é o isopreno (C_5H_8), ao ser adicionado a moléculas de oxigênio ou removido um grupo metil, pode-se formar derivados terpenóides que pode ser álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis e epóxidos. Em relação a sua classificação, é feita com base no número de átomos de carbono, em hemi- (C_5), mono- (C_{10}), sesqui- (C_{15}), di- (C_{20}), sester- (C_{25}), tri- (C_{30}), tetra- (C_{40}) e politerpenos ($C_{>40}$), dependendo do número de unidades de isopreno, na qual pode ser observado na figura 5 (Natal, 2021).

Figura 5. Biossíntese dos compostos terpênicos. Via clássica e via alternativa.



Fonte: (Souza, 2009; Owen e Peñuelas 2005).

Os monoterpenos (C_{10}) têm um papel fundamental na defesa das plantas contra patógenos, apresentando atividade inseticida para muitos insetos, tais como abelhas, vespas, besouros e borboletas. Estes tipos de compostos são empregados em vários inseticidas comerciais por apresentarem baixa toxicidade para os mamíferos. Os sesquiterpenos (C_{15}) estão presentes em óleos essenciais e atuam como fitoalexinas, compostos antibióticos produzidos durante o ataque microbiano. Vários compostos biologicamente ativos como, ácidos biliares, hormônios sexuais, glicosídeos cardioativos, corticosteroides e saponinas são exemplos de triterpenos (C_{30}) (Diniz, 2006; ATik, 2020).

3.6 MÉTODO DE EXTRAÇÃO

A obtenção dos óleos essenciais é baseada na extração, tendo como princípio a separação de frações de compostos ativos da planta utilizando solventes seletivos através de procedimentos padrão. A extração tem como objetivo separar os metabólitos solúveis da planta dos insolúveis (resíduos). Assim, os componentes desejados do material vegetal são isolados e, posteriormente, caracterizados. Esse processo é crítico e determinante para a bioatividade dos constituintes químicos, pelo fato das plantas possuírem uma mistura complexa. A qualidade e a quantidade dos compostos ativos são influenciadas pela técnica de extração, pela parte da planta utilizada, pelos solventes e pelo tipo de equipamento utilizado (Piszcz *et al.*, 2014; Patra *et al.*, 2018).

Com relação ao soluto de interesse durante o processo de extração, os solventes utilizados devem ter uma polaridade semelhante à do soluto, sendo que as suas características químicas podem variar de polares e apolares. Um exemplo disso é que os compostos bioativos hidrofílicos exigem solventes polares como o metanol e etanol de modo semelhante, o isolamento de compostos fenólicos, assim como, metabólitos secundários das plantas exige a seleção de solventes polares com pontos de ebulição baixos como o metanol, etanol, acetona pura ou mistura de acetona/água (Yahya *et al.*, 2018).

Segundo Mahfud *et al.*, (2017), a hidrodestilação é o método mais simples e mais antigo utilizado para a extração de óleos essenciais. A extração é realizada por meio do aparelho do tipo clewenger modificado. O material vegetal é imerso diretamente em água, dentro de um balão e é levado à ebulição. O dispositivo de extração inclui uma fonte de aquecimento, seguida de um balão onde é colocada a água e o material vegetal, um condensador e um recipiente para coletar os óleos.

O princípio da extração concentra-se na destilação azeotrópica, em que a pressão atmosférica, durante o aquecimento, faz com que as moléculas de água e óleo essencial formem uma mistura heterogênea que atinge o seu ponto de ebulição próximo de 100 °C, isso faz com que seja permitida a obtenção dos óleos, cujos componentes têm ponto de ebulição mais elevados. A vantagem nesse processo é que ao utilizar a água como solvente, ela é imiscível com a maioria das moléculas terpênicas dos óleos e, portanto, após a condensação, os óleos essenciais podem ser facilmente separados da água por extração com solvente orgânico (Li *et al.*, 2014; Waseem, 2015; Youse *et al.*, 2019).

3.7 ESPÉCIE DE PLANTA ESTUDADA: *Sparattanthelium botocudorum*

3.7.1 Gênero e família

A família Hernandiaceae abrange cerca de cinco gêneros e 60 espécies, distribuídas em áreas subtropicais e tropicais. Dentre elas, apenas *Gyrocarpus*, *Hernandia* e *Sparattanthelium* ocorrem no Brasil. O gênero *Sparattanthelium* é representado por cerca de 15 espécies, existentes principalmente em áreas tropicais. Entre elas, apenas quatro espécies foram estudadas até hoje: *Sparattanthelium amazonum* Martius, *Sparattanthelium uncigerum* Meissn e *Sparattanthelium botocudorum* Mart e *Sparattanthelium tupiniquorum*. Desta última foi realizada a análise das folhas e caules de *Sparattanthelium tupiniquorum* Martius e foi possível identificar diterpenos e sesquiterpenos (Pereira *et al.*, 2007).

A família Hernandiaceae também se encontra distribuída nas tribos Gyrocarpoidea (*Gyrocarpus* e *Sparattanthelium*) e Hernandoidea (*Hernandia*, *Illigera* e *Valvanthera*). Os principais metabólitos secundários encontrados em diversas espécies desta família são os alcalóides e lignanas. Entretanto, quando se remete ao gênero *Sparattanthelium*, apenas alcalóides aporfina e benzilisoquinolina, flavonóides e sesquiterpenos foram identificados (Pereira *et al.*, 2007).

3.7.2 Classificações taxonômica - *Sparattanthelium botocudorum* Mart

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Laurales

Família: Hernandiaceae

Gênero: *Sparattanthelium*

Espécie: *Sparattanthelium botocudorum*

Varição: *Sparattanthelium botocudorum* var. *subtriplinerve*

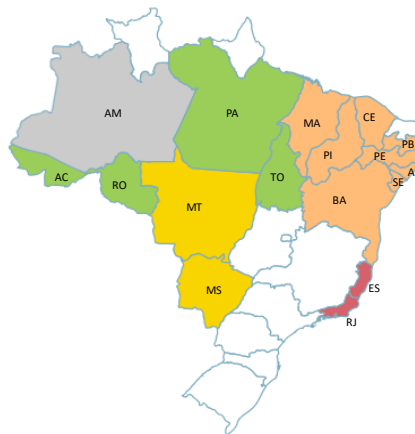
Figura 6. *Sparattanthelium botocudorum*.



Fonte: Autora (2024).

A *Sparattanthelium botocudorum* Mart é uma espécie endêmica do Brasil e ela está distribuída nas seguintes regiões do Brasil (Figura 7), tais como: Norte (Acre, Amazonas, Pará, Rondônia e Tocantins), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Sergipe), Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul e Mato Grosso) e Sudeste (Espírito Santo e Rio de Janeiro). Esta espécie apresenta como domínios Fitogeográficos a Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica (Reflora, 2024). E segundo Almeida *et al.*, (1991), a *Sparattanthelium botocudorum* é arbusto amplamente distribuído no litoral de Pernambuco e na Paraíba onde é comumente conhecida como “Canela-brava”.

Figura 7. Mapa de ocorrência da espécie *Sparattanthelium botocudorum*.



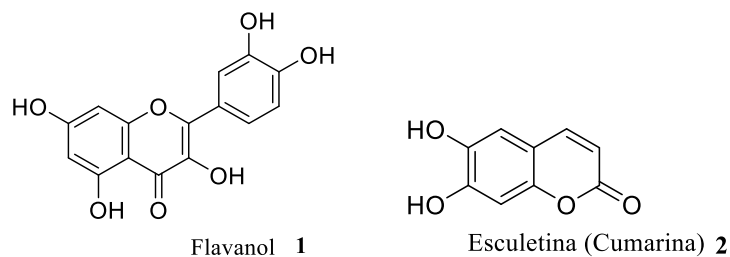
Fonte: Reflora (2024).

3. 8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes podem ser definidos como compostos aromáticos que contém pelo menos uma hidroxila, podendo ser sintéticos como, por exemplo, o butil hidroxianisol (BHA) ou naturais, como é o caso dos compostos fenólicos, organosulfurados e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos vegetais. Sobre os antioxidantes sintéticos, já existem estudos que abordam o potencial toxicológico destes compostos na qual demonstram que podem ser carcinogênicos. Desta forma, pesquisadores estão buscando cada vez mais encontrar novos compostos naturais que apresentem atividades antioxidantes, na tentativa de substituir os antioxidantes sintéticos, visando diminuir a quantidade de uso em alimentos (Soares, 2002).

Segundo Niciforovic *et al.*, (2010), as plantas são capazes de sintetizar compostos antioxidantes, principalmente os compostos fenólicos (Figura 8), que participam dos mecanismos de defesa contra danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio. Os compostos fenólicos são encontrados em plantas e são considerados antioxidantes primários e atuam capturando ou neutralizando radicais livres. As propriedades antioxidantes dos óleos essenciais cada vez mais têm sido estudadas, bem como a composição desses óleos e as suas propriedades. Os óleos essenciais podem ser classificados como antioxidantes naturais devido à sua capacidade de reduzir a formação de radicais livres e de retê-los. Podendo ser propostos como alternativas de antioxidantes sintéticos, principalmente quando as suas aplicações estão direcionadas à preservação de alimentos (Horvathova *et al.*, 2014).

Figura 8. Exemplos de compostos fenólicos que tem atividades antioxidantes.



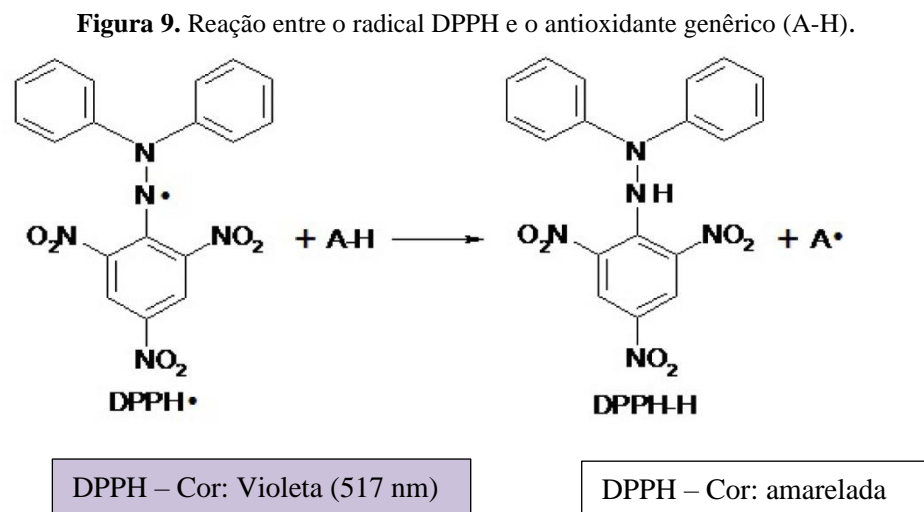
Fonte: Autora (2024).

3.8.1 Teste – DPPH· (radical livre)

Segundo Santos *et al.*, (2007), o teste de DPPH· é um dos métodos indiretos mais antigos para se determinar a atividade antioxidante, sendo sugerido originalmente em 1950 para se

descobrir os doadores de hidrogênio em matérias naturais. O DPPH· reage com compostos fenólicos, bem como com ácidos aromáticos contendo apenas um grupamento.

Esse método tem como característica avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH·. A coloração púrpura é absorvida a um comprimento de onda máximo de aproximadamente 516 nm (Figura 9). Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R·), o DPPH· é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, resultando no desaparecimento da absorção na qual é conferido pelo decréscimo da absorbância. Os resultados obtidos são então determinados pelo percentual de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais (Chandrasekhar *et al*, 2006).



Fonte: Halliwell (2007).

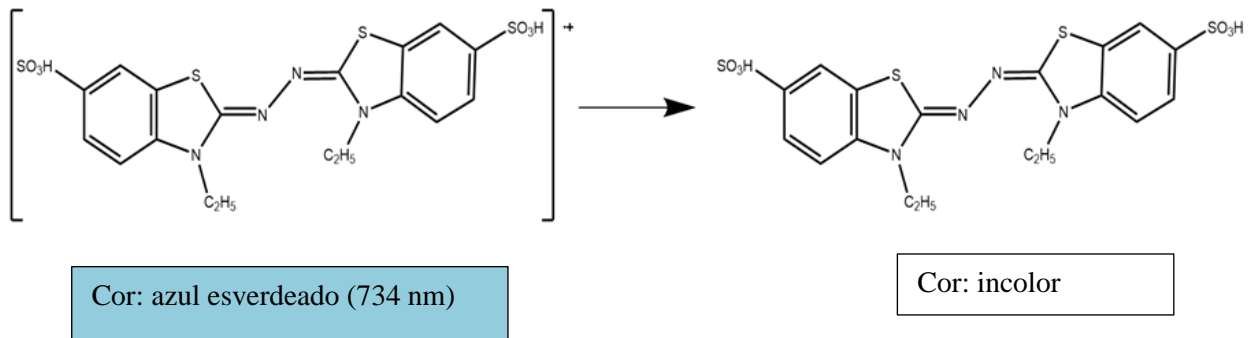
Logo, os compostos com ação antioxidante possuem a capacidade de reagir com os radicais livres e transformá-los em espécies estáveis não reativas.

3.8.2 Teste – ABTS·⁺ (cátion radical)

De acordo com Kuskoski *et al.*, (2005) e (Borges *et al.*, 2011), os efeitos defensivos de antioxidantes naturais em frutas e vegetais estão relacionados a três grupos: ácido ascórbico e compostos fenólicos como antioxidantes hidrofílicos e carotenoides como antioxidantes lipofílicos. Um dos métodos mais utilizados para medir a atividade antioxidante é através da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfônico) (ABTS·⁺), que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática (Figura 10).

Por meio do teste $ABTS^{\cdot+}$ pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica. Esse radical pode reagir de forma enérgica com compostos doadores de hidrogênio, como compostos fenólicos, sendo convertido em uma forma não colorida de $ABTS^{\cdot+}$.

Figura 10. Estabilização do radical $ABTS^{\cdot+}$.



Fonte: Borges *et al.*, 2011.

Sendo assim, elas atuam como antioxidantes prevenindo o estresse oxidativo e atuando contra os complexos instáveis que são responsáveis por mutações no DNA, oxidação lipídica e peroxidação de proteínas. Esses processos são um dos principais contribuintes para várias patologias, como câncer e Alzheimer (DA), o que gera uma séria de preocupação à saúde pública devido à sua alta incidência na população mundial (Samaradivakara *et al.*, 2016; Sobrinho *et al.*, 2016; Yakoubi *et al.*, 2020; Ulukanli *et al.*, 2014).

A descoberta por novas substâncias com atividades antioxidante está relacionada ao fato de que os inseticidas sintéticos também contribuem gerando graves implicações para a saúde humana uma vez que são responsáveis por gerar radicais livres e consequentemente estresse oxidativos causando prejuízos ao organismo fazendo com que as indústrias agroalimentares procurem por alternativas biorracionais (Alilou e Akssira, 2021).

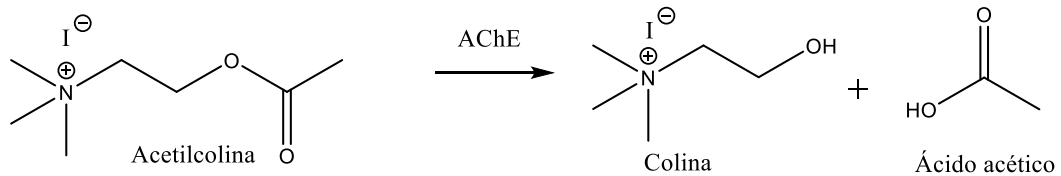
Além disso, Segundo Velloso *et al.*, 2021, a produção desses radicais livres pode ocorrer através de diferentes vias como, por exemplo, no metabolismo mitocondrial, na via do ácido úrico (enzima xantina oxidase), nos peroxissomos, na inflamação e em fagócitos, no processo de isquemia e nos exercícios físicos. Fatores externos, como tabagismo, poluição, radiação, medicamentos, pesticidas, solventes industriais, dentre outros, influenciam nos níveis de radicais livres. Quando presentes em excesso, os radicais livres levam ao estresse oxidativo.

3.9 ATIVIDADE DA ACETILCOLINESTERASE

3.9.1 Mecanismo de ação dos pesticidas sintéticos

Segundo Jokanovic (2018), a acetilcolinesterase (AChE) é uma importante enzima do sistema colinérgico. A AChE é uma enzima éster hidrolase geral, sendo altamente efetiva para a acetilcolina, sendo até mesmo mais específica do que as outras esterases, tais como butirilcolinesterase (BuChE). A função da enzima acetilcolinesterase é catalisar de forma rápida e eficiente a hidrólise da acetilcolina (Figura 11). A rápida hidrólise da acetilcolina faz com que desative o neurotransmissor após se ligar ao receptor, impedindo o seu acúmulo nas sinapses e evitando a produção de estímulos contínuos por interações repetitivas. Então, como resultado, a despolarização produzida pela ligação da acetilcolina ao receptor é finalizada com o objetivo de restabelecer a estabilidade da membrana pós-sináptica e a sua permeabilidade por mecanismos de repolarização (Almeida, 2011).

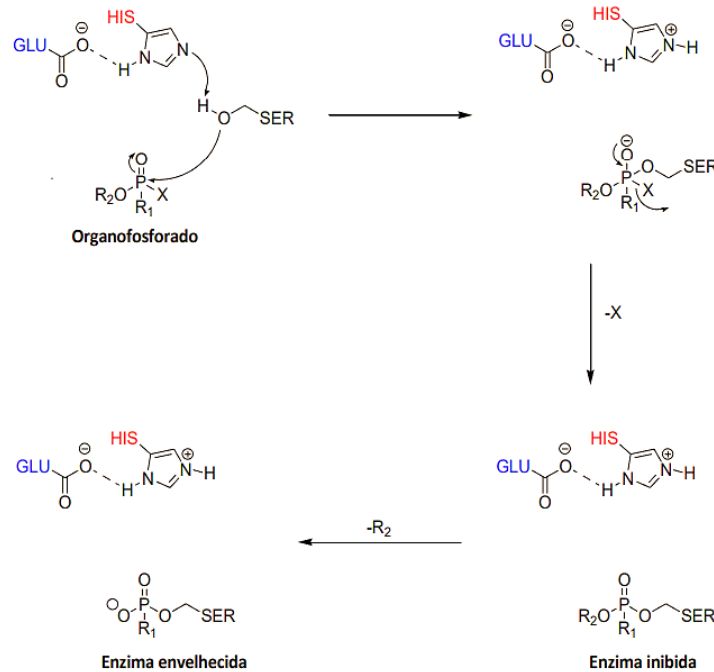
Figura 11. Reação de hidrólise da enzima acetilcolinesterase.



Fonte: Autora (2024).

Entretanto vale destacar que os pesticidas sintéticos são conhecidos por inibir a cascata de impulsos nervosos. Estudos demonstraram que esta situação pode resultar em contrações rápidas dos músculos voluntários, levando à paralisia/morte. Exemplos de grupos de pesticidas que atuam na inibição da enzima acetilcolinesterase são os organofosforados e os carbamatos sendo então classificados no grupo 1 no modo de ação inseticidas que determinado pelo site Comitê de Ação à Resistência IRAC (2024). A taxa de inibição da AChE pelo OP (organofosforados) é dependente do grupo de saída presente na estrutura química do pesticida, ou seja, uma maior tendência de saída do grupo específico resulta em maior afinidade da inibição da acetilcolinesterase (Sharma *et al.*, 2020). Na Figura 12 está representado o mecanismo da ação dos organofosforados.

Figura 12. Mecanismo da ação dos organofosforados.



Fonte: Figueroa-Villar (2014).

Um exemplo do grupo de saída são os halogênios (em especial o flúor) presentes nos organofosforados que são altamente tóxicos. O flúor possui uma maior tendência à hidrólise, o que pode gerar como resultado a inibição significativa da AchE. O grupo dos organofosforados são capazes de induzir a toxicidade pela metabolização do pesticida através das enzimas do citocromo P450 (CPF). Os OPs que são mais utilizados são: clorpirifós (CPF), metil paration (MPT) e malathion (MLT) devido a sua natureza altamente tóxica (Mangas, 2016).

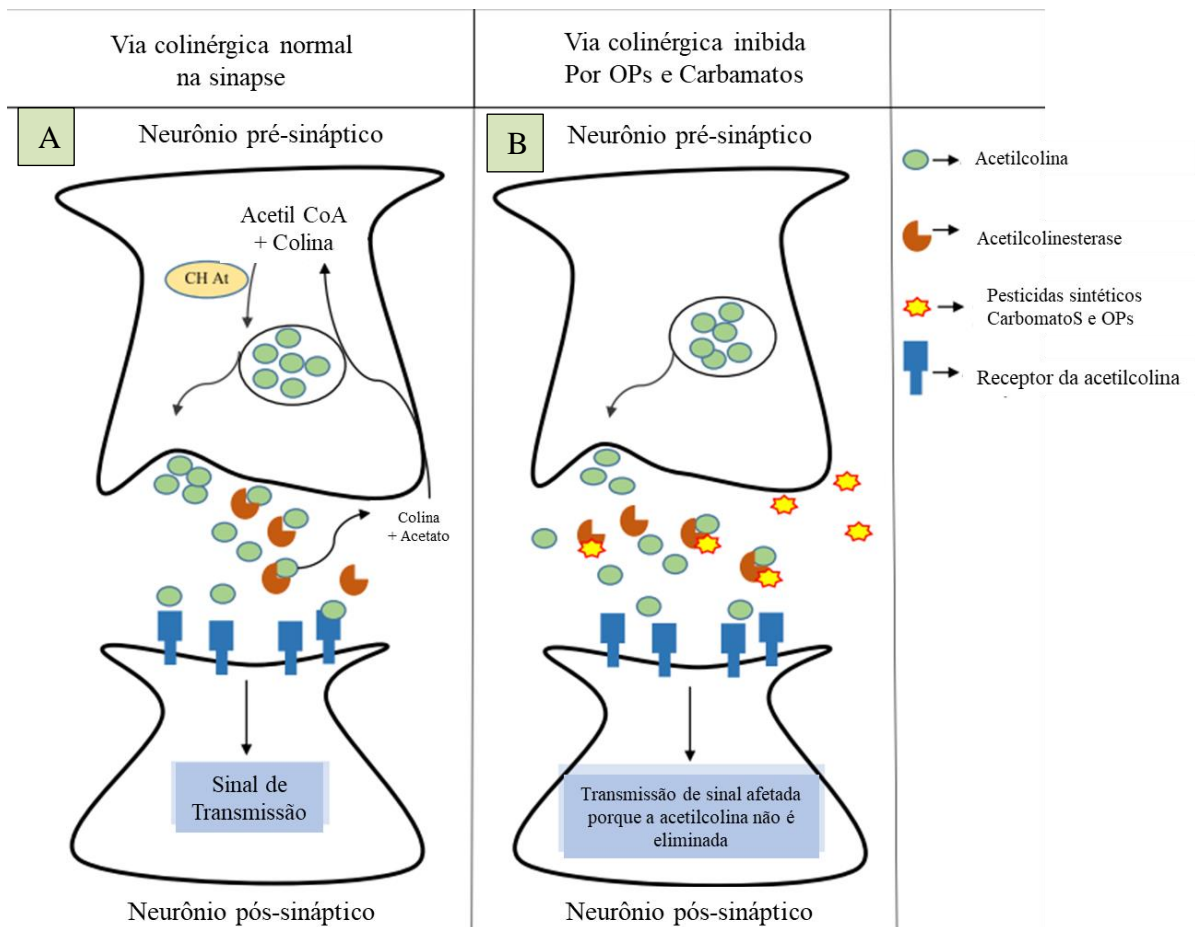
3.9.2 Ação dos pesticidas organofosforados

Os organofosforados atuam tanto pela via da acetilcolinesterase quanto pela via de outras enzimas do sistema nervoso central chamado NTE (neuropatia alvo esterase), isso faz com que gere o aparecimento de um distúrbio chamado polineuropatia retardada induzida por organofosforados (OPIDP). Apresentando como sintomas ataxia, perda sensorial, fraqueza muscular e sensação de formigamento nas mãos e nos pés. Outro ponto que pode ser afetado é

a nível celular, podendo levar à desintegração do segmento neurítico e das bainhas de mielina (Costa, 2018).

No Figura 13, está representada a ação dos Organofosforados e Carbamatos. Na parte (A) está ilustrada a neurotransmissão da acetilcolina em condições normais. Em que a acetilcolina liberada na sinapse é captada pelo neurônio pós-sináptico e o sinal é transmitido. Para regular a neurotransmissão, a acetilcolina (ACh) é clivada pela acetilcolinesterase em colina e acetato. A colina é então absorvida pelo neurônio e convertida em acetilcolina através da adição de acetil-CoA e colina sendo a enzima responsável por essa síntese da Colina-O-Acetil-Transferase (ChAT) sendo a neurotransmissão regulada e não ocorrendo superexcitação dos neurônios. A parte (B) mostra o efeito dos pesticidas na transmissão do sinal. Os OPs e carbamatos inibem a atividade da Acetilcolinesterase. Assim, leva à superestimulação dos neurônios e pode levar à morte neuronal.

Figura 13. Representação da via colinérgica normal e inibida na sinapse pelos pesticidas sintéticos.



Fonte: Adaptado de Sharma *et al.*, (2020).

4 TOXICIDADE DAS *Artemia salina* leach

Segundo Pereira et al., (2022) e Manfra *et al.*, (2016) a *Artemia salina* é um Crustáceo Branchiopoda da Ordem Anostraca que possui características que permitem viver em ambientes salgados, além de serem abundantes e comuns, economicamente viáveis e fornecem as respostas a estresse ambiental, se tornando assim um bom indicador.

O seu ciclo de vida é em torno de vinte e um dias, atingindo a maturidade sexual com 14 dias. A sua reprodução pode ser sexual, que acontece quando os machos e fêmeas copulam, fertilizando os ovos ou de forma partenogenética, que acontece quando as fêmeas conseguem deixar sua descendência. Além do mais elas podem ser ovovivíparas ou ovíparas. A ovoviviparidade acontece quando o ambiente é favorável, e as fêmeas conseguem dá à luz a larva náuplios, que nadam livremente e a oviparidade ocorre quando as condições ambientais são inadequadas, assim as fêmeas produzem ovos de resistência ou cistos (Vinatea, 1994).

A realização do teste de letalidade frente a *Artemia salina* é uma metodologia que bastante empregada na linha de pesquisa de produtos naturais na qual tem por objetivo avaliar o potencial tóxico de extratos, óleos e substâncias isoladas. Mesmo com o avanço tecnológico, esta técnica tem sido utilizada nas publicações científicas. Vale destacar que apesar desse ensaio ser relativamente simples, por meio dessa técnica se tem a capacidade de conseguir gerar informações de grande utilidade de forma rápida, econômica e com reprodutibilidade (Hirota *et al.*, 2012).

Outra vantagem que se é abordada é que esse o bioensaio com a *Artemia salina* Leach é um microcrustáceo cosmopolita de água salgada em que tem a facilidade de reprodução, o que favorece seu uso em ensaios de toxicidade, e pode ainda indicar possíveis ações biológicas como anticancerígena, inseticida, moluscicida e antifúngica (Luna *et al.*, 2005).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 LOCAIS DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

A presente pesquisa foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos (LPNBio) e no Laboratório de Investigação Química de Inseticidas Naturais (LabIQUIN) do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

5.2 COLETAS DO MATERIAL VEGETAL

A coleta do material vegetal foi realizada no Jardim Botânico no bairro Curado, na cidade de Recife, no estado de Pernambuco. Na qual está localizado no Km 7,5 da BR 232 de coordenadas: 8°4'33"S 34°57'40"W. A coleta foi desenvolvida em período vespertino durante o mês de agosto do ano 2023 (Figura 14).

Figura 14. Entrada do Jardim Botânico, PE.



Fonte: autor (2024).

5.3 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo das folhas da *Sparattanthelium botocudorum* foram obtidos por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger modificado (Figura 15). O rendimento do óleo foi calculado após duas horas de extração, com base no peso das folhas frescas, separadas no início do processo. Após as duas horas o óleo ainda continuou sendo extraído exaustivamente.

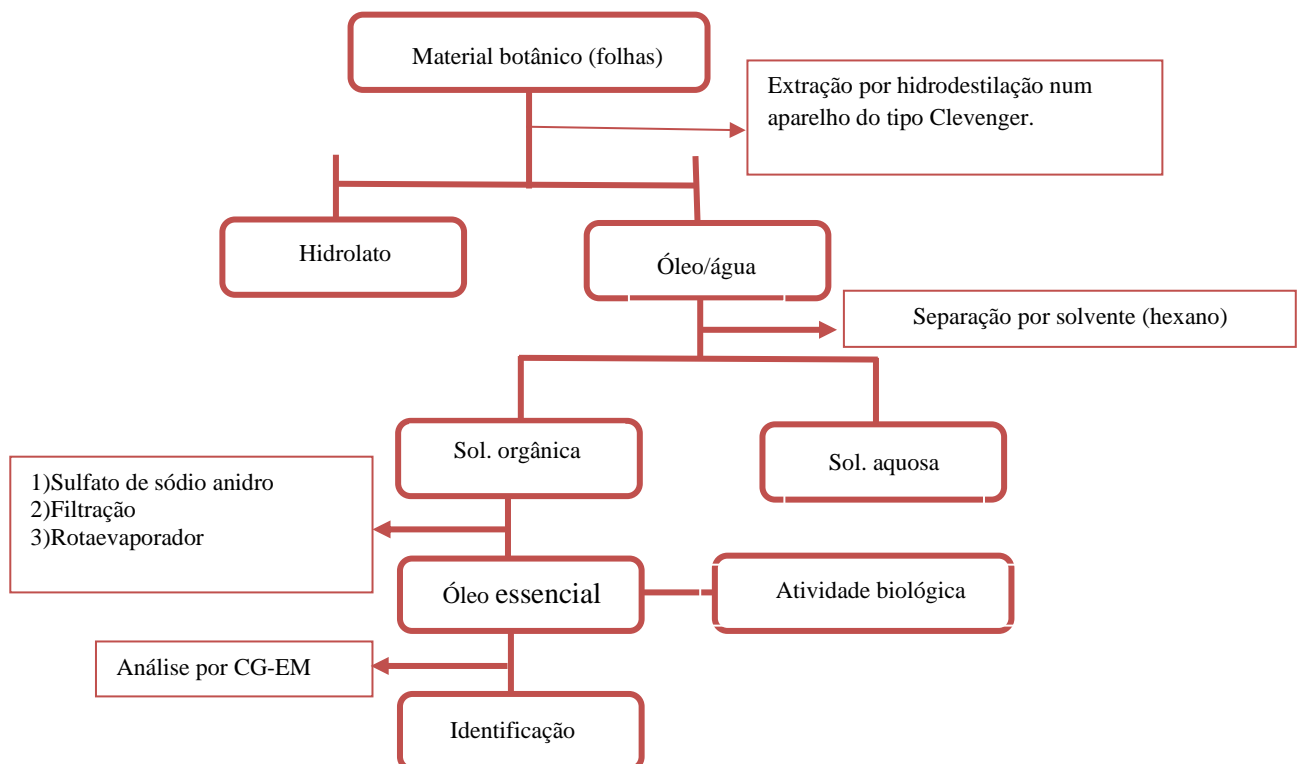
Figura 15. Aparelho do tipo Clevenger modificado.



Fonte: Autora (2024).

O óleo essencial foi extraído com adição de n-hexano ao hidrolato. A água foi separada do solvente por diferença de densidade e os resquícios de água foi removido com a adição de sulfato de sódio anidro. Posteriormente, o óleo dissolvido no solvente orgânico foi filtrado em papel de filtro e o volume foi reduzido em rotaevaporador (Esquema 1). Em seguida o óleo foi armazenado em um recipiente de vidro, fechado a -5°C .

Esquema 1. Extração e tratamento do óleo essencial.



Fonte: autora (2024).

5. 4 IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSA (CG-EM).

A análise qualitativa por cromatografia gasosa – acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) foi realizado utilizando um sistema cromatográfico CG-EM QP2010 SE Plus Shimadzu (Figura 16) com detector seletivo de massa, operando com um impacto de elétrons de 70 eV com intervalo de varredura de 0,5s e fragmentos de m/z 40 a 550 Da. com os seguintes parâmetros: gás de arraste = hélio, fluxo = 1 mL/min, modo Split (1:30); volume de injeção de 1 μ L diluído (1/100) do óleo em *n*-hexano. A identificação da composição química do óleo foi realizada por comparação com a literatura especializada (Adams, 2017) e pela comparação com padrões autênticos e com a própria biblioteca interna do equipamento.

Figura 16. Cromatógrafo gasoso e espectrômetro de massas.



Fonte: autora (2024).

5.5 BIOENSAIOS

5.5.1 Criação do ácaro *Tetranychus urticae*

Os ácaros foram criados sob responsabilidade do Laboratório de Investigação

Química de Inseticidas Naturais do Departamento de Química da UFRPE. A criação foi mantida com auxílio das plantas de feijões de porcos (*Canavalia ensiformes* L), onde foram cultivadas em vasos com capacidade de 5L, com solo arenoso, em casa de vegetação. Os vasos, que possuem as plantas no estágio adequado para criação, são levados ao laboratório e infestados onde está sendo representado na Figura 17.

Figura 17. Plantação (parte A) dos feijões de porcos (*Canavalia ensiformes* L) e a Criação (parte B) dos Ácaros rajados.

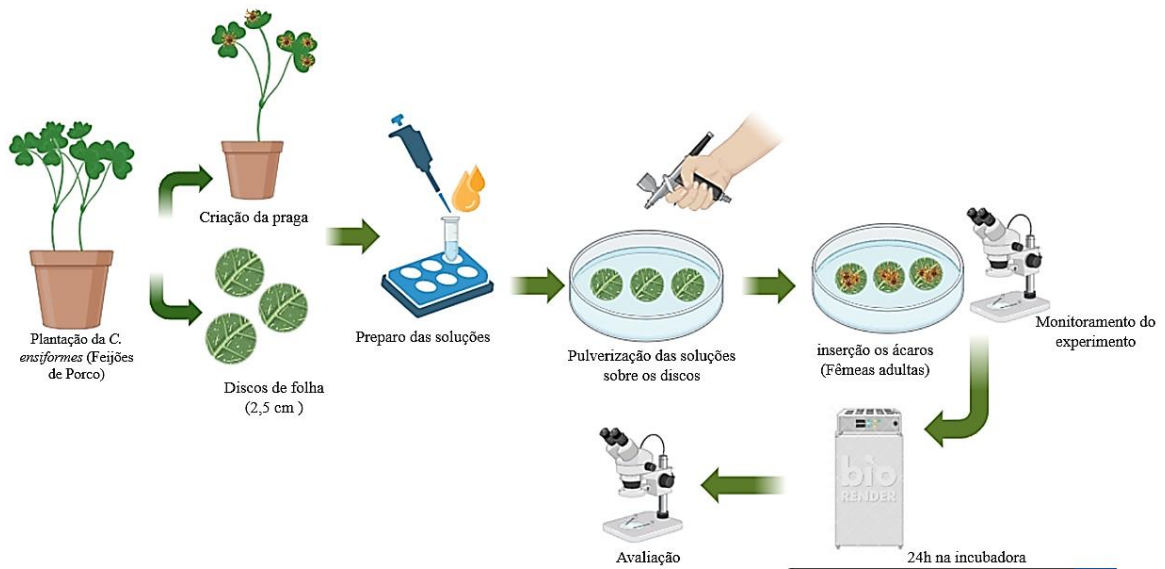


Fonte: autora (2024).

5.5.2 Bioensaio de contato residual sobre as fêmeas do *T. urticae*

A metodologia foi adaptada de Ribeiro *et al.*, (2016). Os testes de contato residual foram realizados em placas de Petri (10 cm Ø e 1,5cm de altura), onde foram adicionados três discos de folhas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.) (2,5 cm Ø), colocados em discos de papel de filtro sobre espumas de polietileno, saturados com água. Sobre esses discos foi pulverizado a solução do óleo essencial *S. botocudorum* durante 15 segundos. Posteriormente em cada disco foram adicionadas 10 fêmeas adultas do ácaro rajado totalizando 30 ácaros por cada placa de Petri (Figura 18).

Figura 18. Bioensaio Adulticida com OE da *S. botocudorum* sobre o ácaro rajado fêmeas.



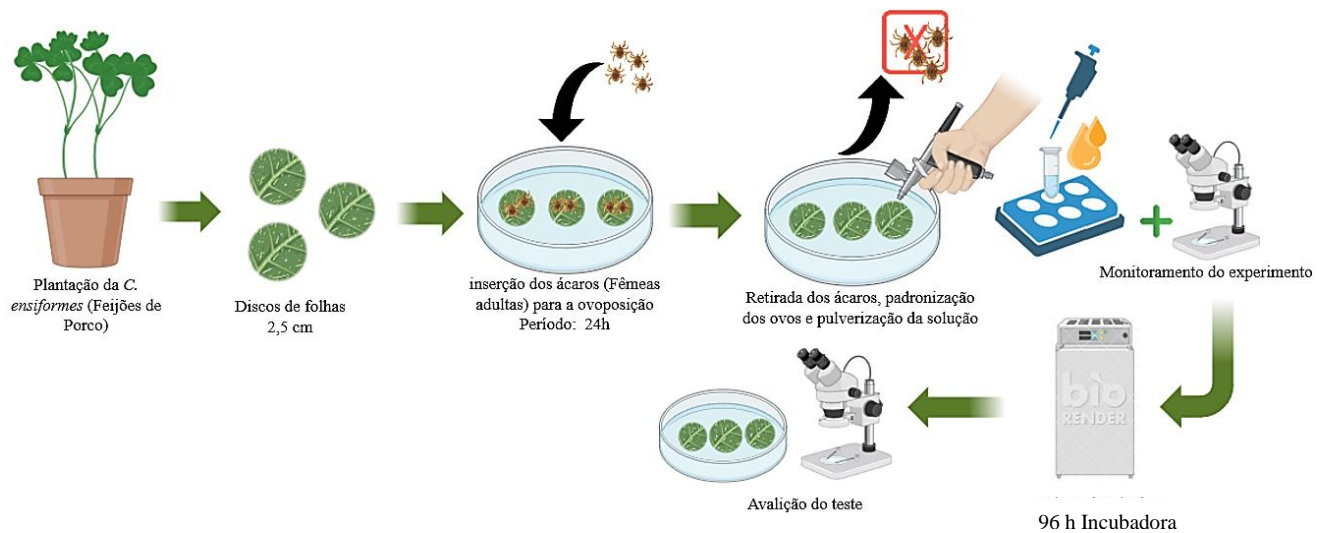
Fonte: autora (2024).

As concentrações aplicadas foram determinadas a partir de bioensaios preliminares de 1,0; 10,0 e 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Para cada concentração de óleo testado o experimento foi realizado em triplicata, isto é, 90 ácaros para cada tratamento. O período de exposição dos óleos foi de 24h, depois de decorrido o tempo será feita a avaliação. Na contagem serão considerados mortos os ácaros que apresentaram incapacidade de reagir à ação de um leve toque com o pincel de cerdas finas e caminhar uma distância superior ao comprimento de seu corpo.

5.5.3 Bioensaio ovicida sobre os ovos do *t. Urticae*

O método usado para avaliar o efeito ovicida do óleo essencial *S. botocudorum* foi obtido através de Salman *et al.*, (2015). Três discos de folhas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* L.) (2,5 cm) foram distribuídos em placas de Petri (10 cm de diâmetro), contendo discos de papel de filtro em esponjas saturadas com água. Dez fêmeas adultas de *T. urticae* foram transferidas para os discos para obtenção dos ovos. Após 24h as fêmeas foram retiradas e a quantidade total de ovos por discos foram contados, em seguida foi necessário padronizar os ovos para cada concentração, logo num total de 20 ovos por disco foram deixados em cada placa de petri. O experimento foi realizado em triplicata, totalizando 600 ovos por concentração (Figura 19).

Figura 19. Bioensaio ovicida do óleo essencial sobre o ácaro rajado fêmeas adultas.



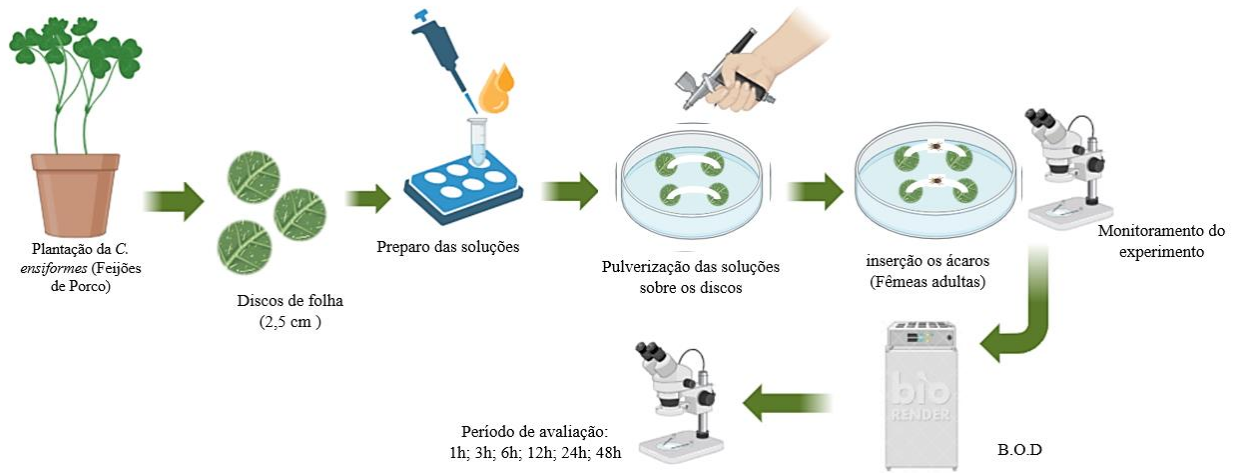
Fonte: Autora (2024).

Após a contagem, foi pulverizado a solução etanólica do óleo essencial mais 1% de DMSO e 0,1 % de Wil fix sobre os discos com os ovos. As concentrações testadas variaram de 1,2 a 16,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Após 96h foi avaliado a viabilidade dos ovos, observando se após a exposição ao óleo houve ou não eclosão.

5.5.4 Bioensaio de dupla-escolha

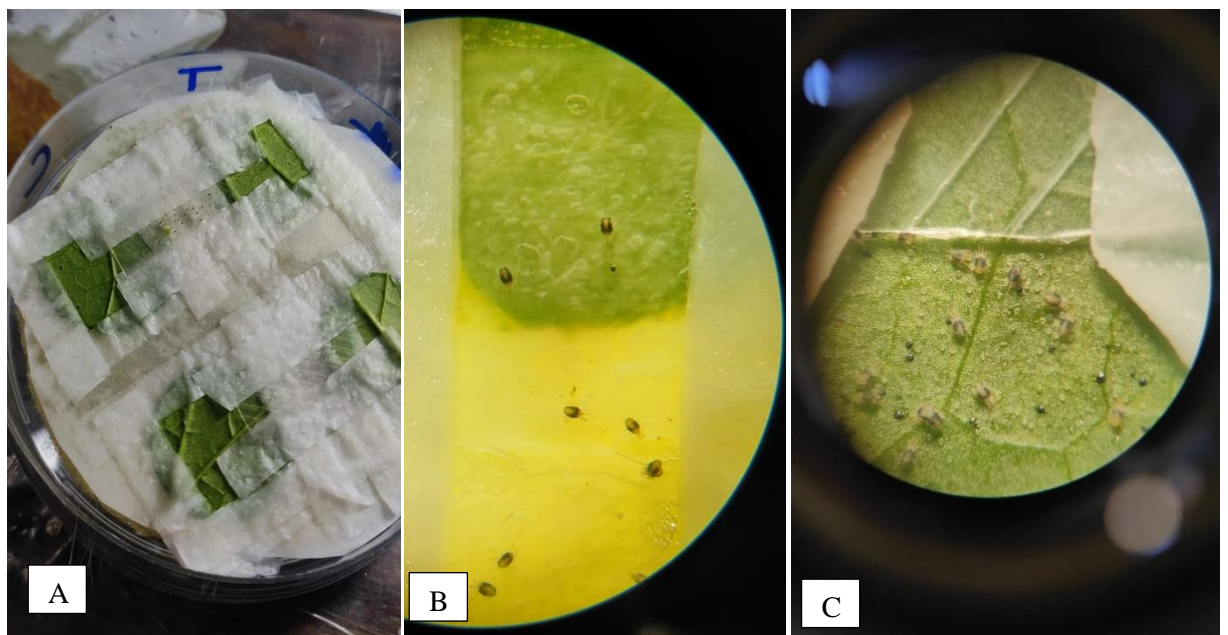
O método descrito por Araújo *et al.*, (2012) com modificações foi utilizado para avaliar a ação repelente dos óleos essenciais dos botões florais de *S. botocudorum*. Foram confeccionados discos foliares de feijão-de-porco (2,5 cm Ø) na qual foi pulverizado as soluções referentes as CL₅₀, CL₃₀ e a CL₁₀, contendo óleo essencial mais 1% de DMSO e 0,1 % de Wil fix. Para o controle negativo os discos foram pulverizados com solução contendo o solvente, álcool etílico mais 1% de DMSO e 0,1 % de Wil fix. Após secagem a temperatura ambiente dois discos foliares (tratamento e controle negativo) foram acondicionados em placas de Petri (10 cm Ø e 1,5 cm de altura) contendo espuma de polietileno e disco de papel de filtro saturado com água e unidos por uma lamínula quadrada de 18 mm que serviu como ponte. Trinta ácaros fêmeas por pontes foram liberados sobre as lamínulas. Foram utilizados no total 360 ácaros (tratamento e controle). A preferência alimentar e de oviposição foi determinada após 1h, 3h, 6h, 12h, 24h e 48h por meio da contagem do número de ácaros e ovos nos discos tratamento e controle negativo que está representado no (Figura 20 e 21).

Figura 20. Bioensaio dupla escolha frente ao ácaro rajado fêmeas adultas.



Fonte: Autora (2024).

Figura 21. Preparação dos discos (parte A), ácaros rajados fêmeas adultas adicionadas na ponte (parte B), e avaliação comportamental das pragas após 12 h de início do teste (parte C).

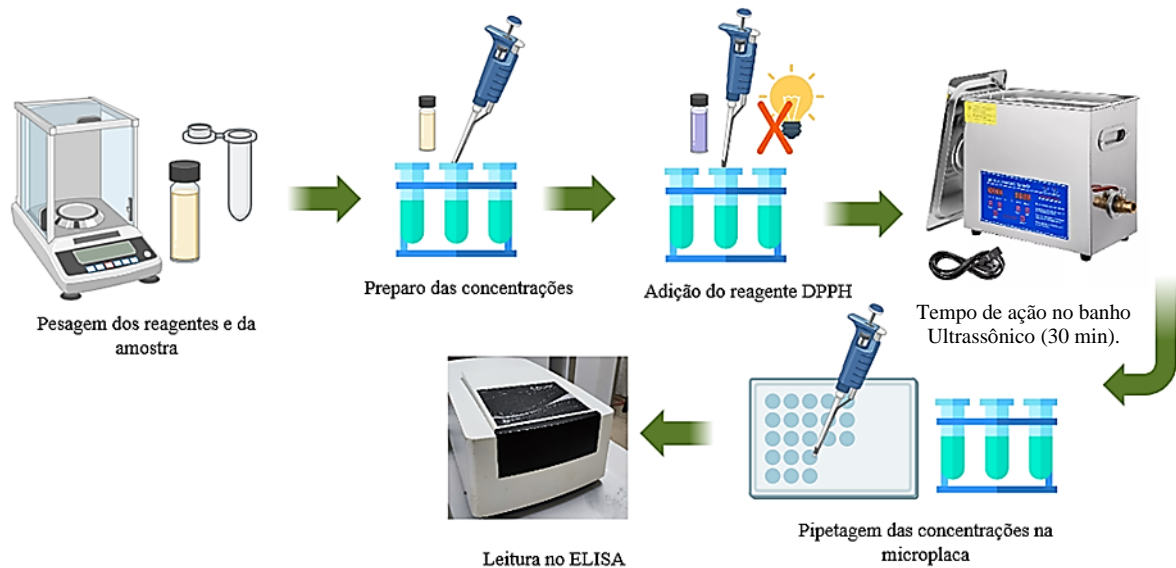


Fonte: Autora (2024).

5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES DPPH[•]

A atividade antioxidante dos óleos essenciais das folhas da *S. botocudorum* foi realizada contra o radical livre DPPH[•] seguindo a metodologia de Silva *et al.* (2006). Soluções estoque foram preparadas a partir dos extratos e da fração de metanol em várias concentrações (0,10 a 5,0 mg/mL). Por meio de análise preliminar, quantidades adequadas de soluções estoque das amostras e 450 µL da solução de DPPH[•] (23,6 mg/mL em EtOH) foram transferidas para tubos Eppendorf de 0,5 mL e o volume foi completado com EtOH, após homogeneização. As amostras foram sonicadas por 30 min e a quantidade de DPPH[•] foi registrada em um dispositivo UV-vis (Biochrom EZ Read 2000) em um comprimento de onda de 517 nm em uma placa de 96 poços. O ácido ascórbico foi usado como controle positivo e todas as concentrações foram testadas em triplicata (Figura 22).

Figura 22. Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres DPPH[•].



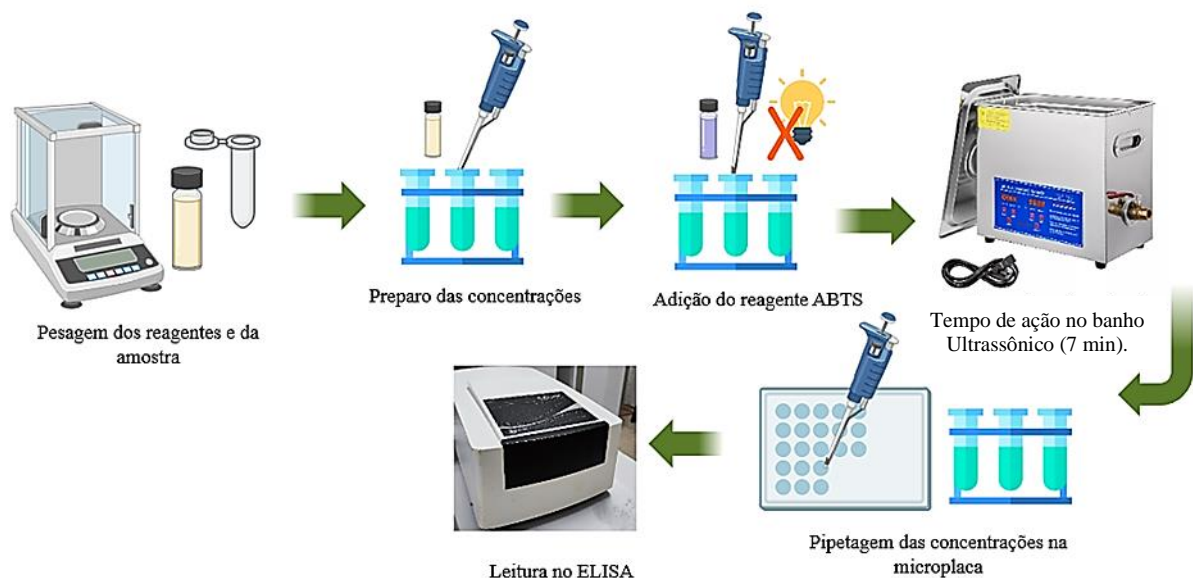
Fonte: Autora (2024).

5.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES ABTS^{•+}

A determinação da atividade antioxidante de OE de Folhas da *S. botocudorum* contra o cátion radical ABTS^{•+} foi realizada seguindo a metodologia descrita por Re *et al.*, 1999, em um aparelho UV-vis (Biochrom EZ Read 2000, utilizando Trolox como o composto padrão. As concentrações iniciais das soluções das amostras foram de 0,1–1,0 mg/mL, com a adição de

450 μL da solução radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$ para dar concentrações finais de amostras de 2,5–100,0 μg / mL. As amostras foram protegidas da luz e sonicadas por 6 min. A absorbância das amostras e o controle positivo foram medidos em um comprimento de onda de 734 nm usando uma microplaca de 96 poços. Cada concentração foi testada em triplicata (Figura 23). A eficiência antirradicalar foi estabelecida por meio de análise de regressão linear e o intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$) obtido por meio do programa estatístico GraphPad Prism 9.0. Os resultados foram expressos através do valor da Concentração Efetiva média (CE_{50}), que representa a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais.

Figura 23. Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres $\text{ABTS}^{\cdot+}$.



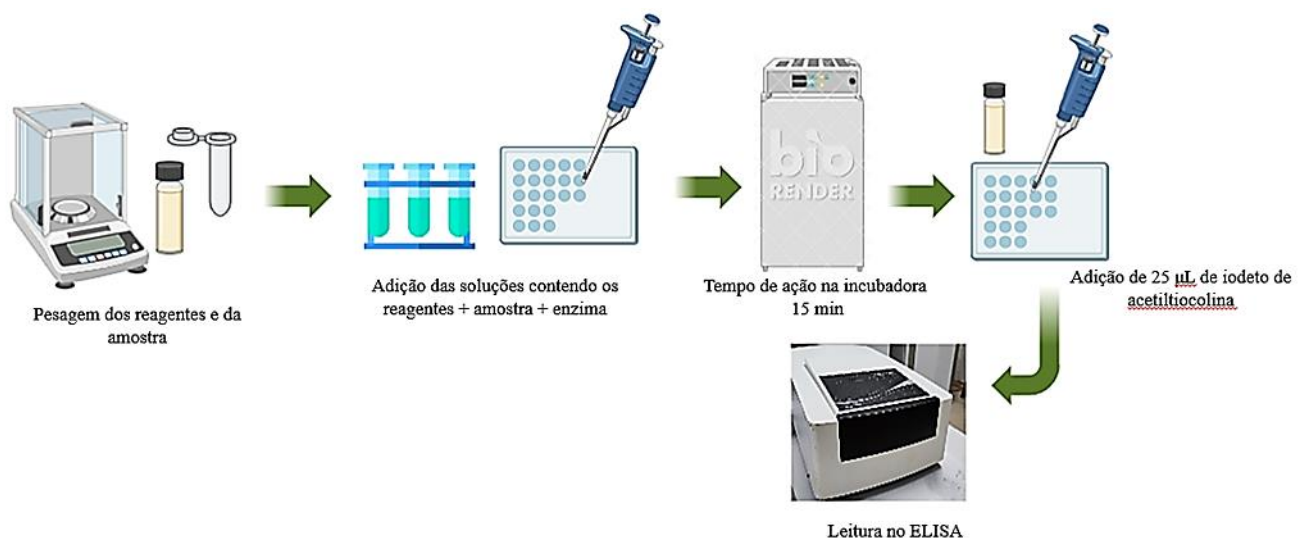
Fonte: Autora (2024).

5.8 TESTE DE INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

A inibição da atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi determinada seguindo a metodologia de Araujo (2022), com algumas modificações. Foram adicionadas em cada poço de uma microplaca de 96 poços, soluções contendo: 50 μL de tampão fosfato 50 mM pH 7,4, 125 μL ácido ditionitrobenzóico (DTNB, 3 mM em tampão fosfato pH 7,4), 25 μL de acetilcolinesterase (AChE de enguia elétrica, 1 U/mL em tampão fosfato pH 7,4) e 25 μL do óleo essencial diluído em MeOH, que foram incubados por 15 min a 25°C. Em seguida, foi adicionado 25 μL de iodeto de acetiltiocolina (ACTI, 15 mM em tampão fosfato pH 7,4). Atividade de AChE foi analisada em um leitor de microplacas ELISA EZ Read 2000, absorvância a 405 nm a cada 13 segundos por cinco vezes. O óleo essencial e o controle positivo foram analisados em concentrações de 100-0,78 $\mu\text{g/mL}$. O cloridrato de donepezila foi utilizado como controle positivo. Todas as amostras foram analisadas em triplicata (Figura 24), e após normalização dos dados, foi realizada a curva de regressão não linear pelo programa estatístico GraphPad Prism v 9.

Atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) trata-se de um teste que tem importância no estudo dos produtos naturais. Por ser essa enzima responsável por sinapses nervosas e hidrólise da acetilcolina, seu mecanismo de ação é usado no tratamento de doenças de Alzheimer, entre outras doenças neurológicas. E a atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) é um dos testes que tem grande importância no estudo dos produtos naturais (Almeida, 2011; Ourique *et al.*, 2023).

Figura 24. Teste de inibição da enzima acetilcolinesterase.

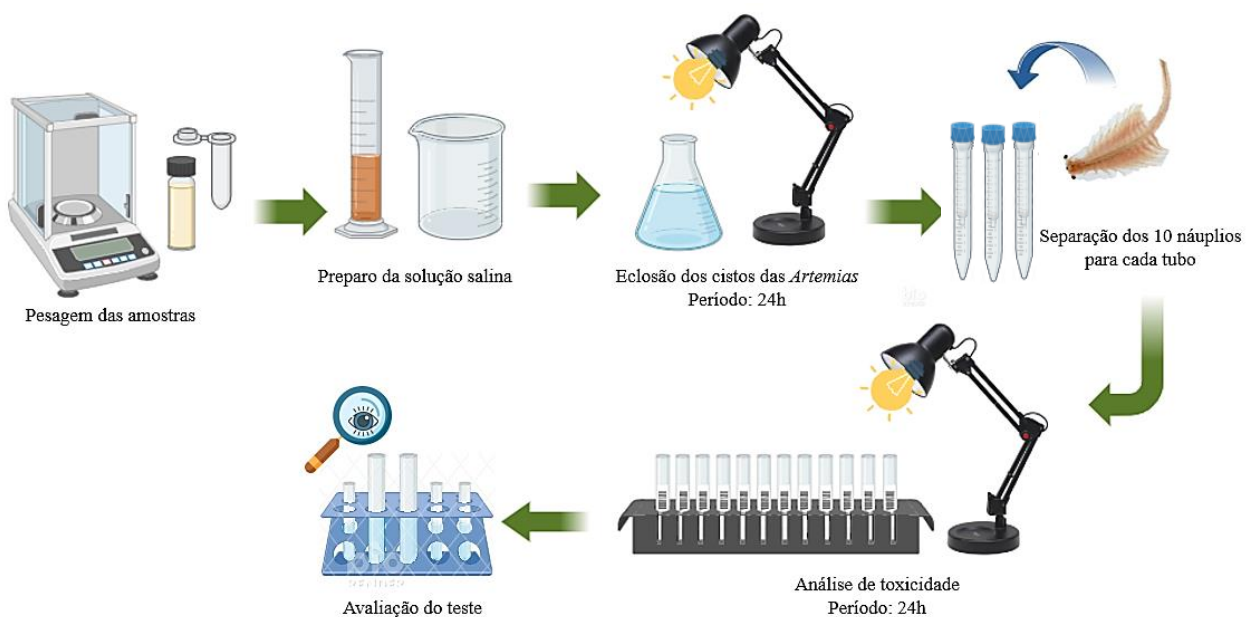


Fonte: Autora (2024).

5.9 METODOLOGIA DE TOXICIDADE FRENTE A *ARTEMIA SALINA* L.

O bioensaio de letalidade para larvas de *Artemia salina* foi realizado utilizando a metodologia descrita por Meyer *et al.*, (1982) com algumas modificações. Os cistos do microcrustáceo *Artemia salina* foram colocados em um Erlenmeyer com solução salina artificial (23 g de sal marinho/1 litro de água destilada/0,7 g de bicarbonato de sódio), sob iluminação artificial, aeração e controle da temperatura (20-30 °C) para a eclosão dos ovos por 24 horas. Após 24 horas, as larvas foram expostas a diferentes concentrações (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 µg/mL) dos produtos a serem testados por 24 horas, utilizando-se tubos falcons, cada um contendo cerca de 10 náuplios, nas 10 diferentes concentrações, cada uma em triplicata constituindo um ensaio, buscando sempre a maior concentração em que se observasse 0% de mortalidade e a menor concentração em que se ocasionasse 100% de mortalidade, de modo a obter a CL₅₀; 24 h (concentração letal para 50% da população em 24 h). A solução da amostra foi preparada com 1% de DMSO (dimetilsulfóxido) completando para 1mL com a solução salina artificial e em seguida as concentrações de teste foram preparadas. Após 24h de exposição das concentrações, foi realizada a contagem de náuplios vivos e mortos e os resultados foram submetidos a tratamento estatístico utilizando a regressão linear, o qual forneceu os valores de CL₅₀. Na figura 25 está representado como foi realizado esse bioensaio.

Figura 25. Bioensaio de toxicidade frente a *Artemia salina*.



Fonte: Autora (2024).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após atenderem aos testes de normalidade e homogeneidade de variância (Proc Univariate) os dados de mortalidade e oviposição foram submetidos à ANOVA e as comparações das médias realizadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software SAS (versão 9.0) SAS INSTITUTE 2002. Foram determinadas as concentrações letais 50 (CL₅₀) do óleo essencial de *S. botocudorum*, por meio da análise de PROBIT através do software POLO-PC (Finney, 1971).

Para o teste de repelência a distribuição da normalidade e a igualdade das variâncias foram avaliadas pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Barlett respectivamente utilizando o software SAS (versão 9.0).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DA *Sparattanthelium botocudorum* .

O óleo essencial (OE) das folhas de *Sparattanthelium botocudorum* que foi obtido através da técnica de hidrodestilação apresentou uma coloração amarelada (Figura 26), odor cítrico e com um rendimento de 0,40 %. Esse resultado está de acordo com o obtido por Dutra *et al.*, (2020) que encontrou para os óleos da folha da *S. botocudorum* coletado no Espírito Santo, Brasil um rendimento de 0,34%.

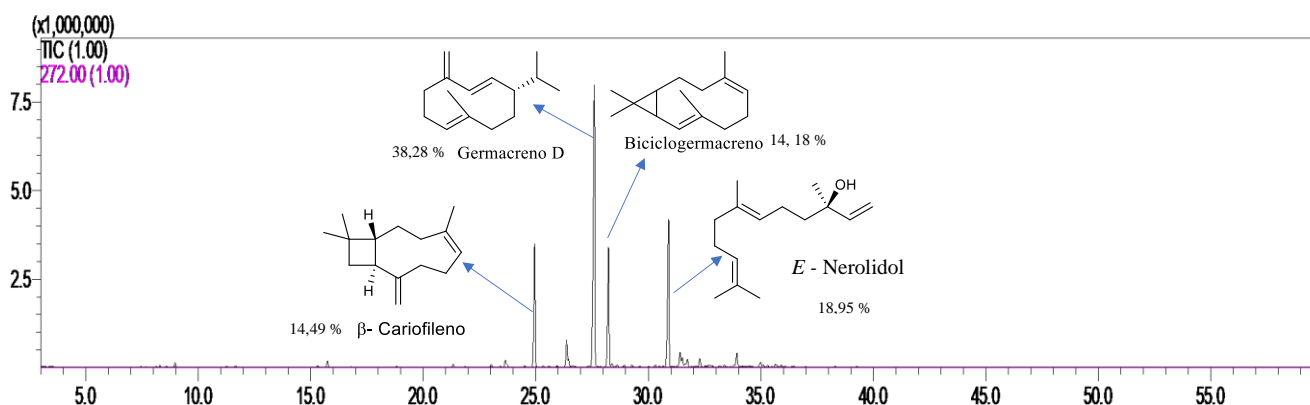
Figura 26. Óleo essencial das folhas da *Sparattanthelium botocudorum*.



Fonte: Autora (2024).

A análise da composição química do OE das folhas *S. botocudorum* permitiu a identificação de 12 compostos representando 94,95 % do óleo. A Figura 27 apresenta o cromatograma do óleo essencial da *S. botocudorum* com a estrutura dos principais constituintes majoritários.

A classe predominante no óleo de *S. botocudorum* foram os sesquiterpenos sendo identificados como constituintes majoritários o germacreno D com (38,28 %), *E*-nerolidol (18,95 %), β -cariofileno (14,49 %) e biciclogermacreno (14,18 %). Sendo o *Z*- β -ocimeno o único monoterpeno identificado no óleo com o percentual de 0,37% como pode ser observado na Tabela 1.

Figura 27. Cromatograma do óleo essencial das folhas da *S. botocudorum*.

A composição química descrita na Tabela 1 para o óleo das folhas da *S. botocudorum* está de acordo com o obtido por Dutra *et al.*, (2020) que ao analisar por CG-EM o óleo das folhas da *S. botocudorum* também identificou como os constituintes majoritário o germacreno D (33,2%) e biciclogermacreno (23,4%) como constituintes majoritários. Por outro lado, o germacreno A (17,7%) identificado em alto percentual na amostra coletado no Espírito Santo não foi detectado em nossas análises. Em contrapartida em nossas análises β -cariofileno foi o encontrado em nossas análises em alto percentual e não foi encontrado em (Dutra *et al.*, 2020).

Essas diferenças na composição química nas amostras das mesmas espécies coletadas em diferentes localidades podem ser justificadas por fatores como variabilidade genética épocas do ano, condições de clima, relevo, solo, tipo de cultivo e temperatura (Simões *et al.*, 2004).

Tabela 1. Composição química do óleo essencial das folhas de *Sparattanthelium botocudorum*.

Nº	Compostos	IR ^a	IR ^b	%	Método de identificação
1	<i>Z</i> - β -Ocimeno	1040	1044	0,37	IR, EM
2	β -Cubebeno	1394	1387	0,81	IR, EM
3	β -Cariofileno	1425	1417	14,49	IR, EM, CI
4	α -Humuleno	1460	1452	3,20	IR, EM, CI
5	Sesquisabineno	1462	1457	0,63	IR, EM
6	Germacreno D	1490	1484	38,28	IR, EM, CI

7	Biciclogermacreno	1505	1500	14,18	IR, EM, CI
8	Z- α -Bisaboleno	1509	1506	0,42	IR, EM
9	E-Nerolidol	1573	1561	18,95	IR, EM, CI
10	Germacreno-4-ol	1586	1574	1,70	IR, EM
11	β -Atlantol	1589	1608	1,08	IR, EM
12	Óxido de cariofileno	1594	1582	0,84	IR, EM, CI
	Total			94,95	
	Monoterpenos			0,37	
	Sesquiterpenos			94,58	

^aÍndice de retenção calculados a partir dos tempos de retenção em relação aos de uma série de n-alcenos em uma coluna capilar DB-5 de 30m. ^bÍndices de retenção da literatura. IR = índice de retenção, EM = espectro de massa, CI = Co-injeção com padrões autênticos.

6.2 TOXICIDADE DO ÓLEO DE *SPARATTANTHELIUM BOTOCUDORUM* SOBRE AS FÊMEAS E OVOS DO *T. URTICAE*

Através do teste de contato residual nas diferentes fases do ácaro rajado (*T. urticae*), foi observado que o óleo das folhas da *S. botocudorum* se mostrou tóxico frente à praga. Na Tabela 2 está representado os resultados de toxicidade por contato residual sobre adultos fêmeas de *T. urticae* do óleo essencial das folhas de *S. botocudorum*, e de seus principais constituintes dos seus compostos majoritários e dos controles positivos na mortalidade.

Tabela 2. Toxicidade por contato residual adulticida (CL₅₀ em $\mu\text{L/mL}$) do óleo, compostos e inseticidas comerciais sobre o *T. urticae*.

Óleo / Compostos	N	G.L.	Inclinação \pm E.P.	CL ₅₀ (IC 95%)	χ^2
<i>S. botocudorum</i>	400	5	1,94 \pm 0,36	16,52 (12,94 – 20,54)	4,21
β -Cariofileno	410	5	2,25 \pm 0,28	0,64 (0,50–0,83)	0,72
Germacreno D	615	6	1,52 \pm 0,21	29,75 (21,44–40,61)	4,50

Biciclogermacreno	629	6	2,69 ± 0,34	36,91 (28,00–46,53)	6,50
(<i>E</i>)-Nerolidol	630	6	1,26 ± 0,32	2,28 (1,81– 2,83)	2,19
Azamax®	630	5	2,46 ± 0,20	25,82 (21,63 – 31,57)	8,42
Ortus®	720	6	1,22 ± 0,08	0,12 (0,08 – 0,16)	7,37

N: Número de ácaros utilizados. CL₅₀: Concentração letal média para reduzir a população em 50%. E.P.: Erro padrão. X²: Qui-quadrado. G.L.: Grau de Liberdade.

Os resultados para ambos os bioensaios foram dose-dependente, isto é, a mortalidade do ácaro aumentou de acordo com o aumento das concentrações. No teste de toxicidade adulticida, o óleo de *S. botocudorum* revelou uma toxicidade superior àquela observada pelo inseticida botânico comercial Azamax, utilizado como controle positivo. Por outro lado, o inseticida sintético comercial Ortus se mostrou cerca de 100 vezes mais tóxico do que o óleo.

Entre os compostos identificados no óleo que também foram avaliados contra o *T. urticae* o β-cariofileno foi o mais tóxico, apresentando nível de toxicidade próximo ao observado para o controle positivo Ortus. Por outro lado, os compostos germacreno D e biciclogermacreno apresentaram níveis de toxicidade inferior ao observado para o óleo de *S. botocudorum*.

Os resultados de toxicidade ovicida do óleo de *S. botocudorum* e do inseticida comercial Azamax são mostrados na tabela 3.

Tabela 3. Toxicidade por contato residual ovicida (CL₅₀ em µL/mL) do óleo e inseticida comercial sobre o *T. urticae*.

Compostos	N	G.L.	Inclinação±E.P.	CL ₅₀ (IC 95%)	χ ²
<i>S. botocudorum</i>	507	4	4,12 ± 0,61	1,20 (0,99 – 1,37)	0,17
Azamax®	630	5	0,60 ± 0,06	0,003 (0,002-0,004)	5,09

N: Número de ácaros utilizados. CL₅₀: Concentração letal média para reduzir a população em 50%. E.P.: Erro padrão. X²: Qui-quadrado. G.L.: Grau de Liberdade.

O óleo essencial de *S. botocudorum* apresentou uma alta toxicidade sobre os ovos de *T. urticae*. O óleo se mostrou cerca de 13 vezes mais tóxico aos ovos de *T. urticae* do que contra as fêmeas adultas. Porém, o inseticida botânico comercial azamax se mostrou mais tóxico do que o óleo de *S. botocudorum*.

Essa maior toxicidade do óleo sobre os ovos de *T. urticae* do que sobre a praga na fase adulta pode ser justificado pelo fato de que na fase embrionária os ovos dos ácaros são mais vulneráveis a ação dos óleos, uma vez que na fase adulta além de maiores os ácaros podem usar de mecanismos de desintoxicação como biotransformação e sequestro dos princípios ativos presentes no óleo. Ao afetar os ovos das fêmeas a fecundidade é inviabilizada o que também altera o número populacional da próxima geração, interrompendo logo no início a velocidade do crescimento populacional da praga o que pode ser visto como algo positivo, pois um dos motivos da resistência acaricida é o ciclo de vida curto (Piramoona *et al.*, 2022).

Outro fator que potencializa a atividade ovicida dos óleos essenciais é a alta afinidade pelas proteínas dos fios sedas (Figura 28) que são produzidas pela espécie do ácaro rajado. A composição dos fios de seda é rica em aminoácidos, e se assemelha-se à pré-queratina dos mamíferos, uma proteína fibrosa que gera alta afinidade com a membrana dos ovos, causando ponte entre fios, ovos e óleo (Takeda *et al.*, 2020). Um exemplo é a infestação por ácaro rajado nas reboleiras, essas plantas que são de pequeno porte têm seus folíolos mais claros cobertos pela presença desses fios que são produzidos pela praga.

Figura 28. Fios de sedas que são produzidos pelo *Tetranychus urticae*.



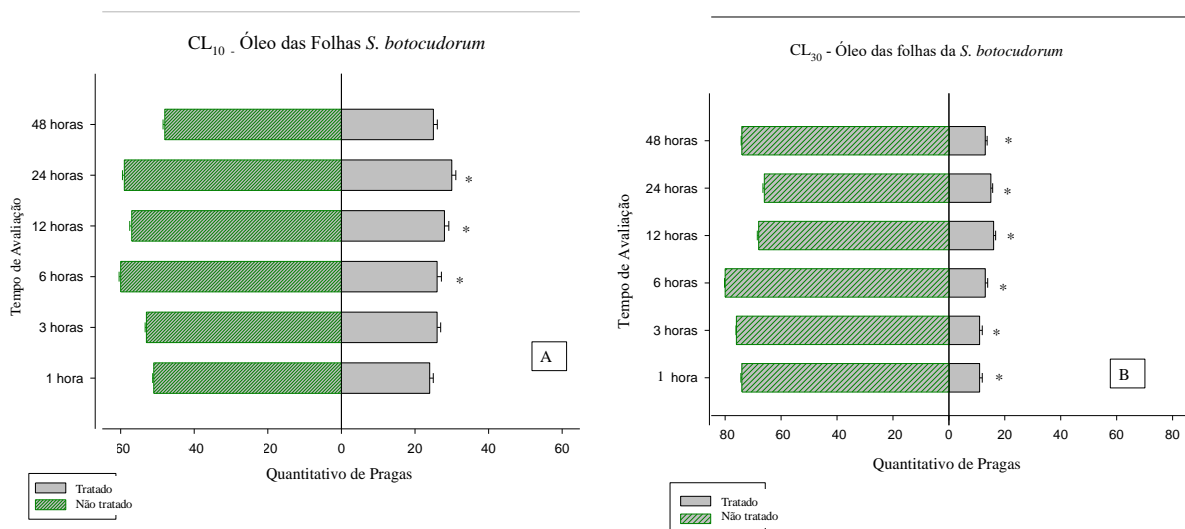
Fonte: Autora (2024).

Os sesquiterpenos, a classe em maior percentual identificado no óleo da espécie *S. botocodurum*, como por exemplo *E*-nerolidol e β -cariofileno já são relatados na literatura por apresentarem propriedades acaricida frente ao *Tetranychus urticae* (Born *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2020). A toxicidade desses compostos foi aqui confirmada no teste adulticida. Por outro lado, uma baixa toxicidade foi observada para o composto germacrene D constituinte majoritário identificado no óleo.

Possivelmente a atividade acaricida apresentada pelos os sesquiterpenos ocorre devido a sua lipofilicidade que podem causar alterações bioquímicas, fisiológicas e comportamentais nas pragas por apresentarem uma maior capacidade de penetração no tegumento de insetos (Lage *et al.*, 2015; Lebouver *et al.*, 2013; Marchesini *et al.*, 2020; Matos *et al.*, 2020; Benelli *et al.*, 2018).

Na Figura 29 é apresentado os resultados referentes a atividade de repelência do óleo de *S. botocodurum* frente ao ácaro rajado. Para o teste de repelência foram selecionadas concentrações subletais estimadas de 3,6 $\mu\text{L/mL}$ (CL₁₀) e 8,8 $\mu\text{L/mL}$ (CL₃₀) do óleo de *S. botocodurum*.

Figura 29. Repelência (%) de adultos de Ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) por meio discos tratado ou não tratados com OE da *S. botocodurum* nas CL₁₀ e CL₃₀. *Significativos valores a 5% de probabilidade pelo teste t pareado ($P < 0,05$).



Fonte: Autora (2024).

Nas concentrações testadas o óleo se mostrou repelente as fêmeas de ácaro rajado por períodos de até 48 horas. Porém, na concentração de 8,8 µL/mL o óleo manteve um alto efeito repelente durante todo o experimento.

O efeito repelente de óleos essenciais sobre o ácaro rajado é relatado para os óleos obtidos de espécies do gênero *Piper* (Araújo *et al.*, 2020) *Citrus* (Araújo *et al.*, 2010). Silva *et al.*, (2019) avaliou o efeito repelente de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum*, *Melaleuca leucadendra* e *Piper aduncum* e de seus principais compostos (eugenol, (*E*)-nerolidol e dilapiol) e verificou que todos mostraram efeito repelente em períodos superiores a 48h.

Por outro lado, estudos realizados por Roh *et al.*, (2013) e Tak e Isman (2017) mostraram que o efeito repelente dos óleos e com misturas de compostos e concluíram que nem todos os compostos agudamente tóxicos apresentaram fortes efeitos repelentes. Segundo Take e Isman (2017) a toxicidade de um composto a uma concentração elevada pode não determinar diretamente o efeito repelente, mostrando que dois efeitos não estão totalmente relacionados.

6.3 ATIVIDADE ACETILCOLINESTERASE

Na Tabela 4 é apresentado os resultados da CI_{50} referente à atividade da acetilcolinesterase do óleo da *S. botocudorum* e do controle positivo o lannate inseticida comercial a base do carbamato e o Cloridrato de donepezila fármacos com efeito confirmado sobre a enzima.

Tabela 4. Atividade de inibição da enzima AChE (µg/mL) do óleo das folhas da *S. botocudorum*.

Óleo/controle positivo	CI_{50} (IC 95%)
<i>S. botocudorum</i>	2,90 (1,27 – 4,79)
Lannate®	2,92 (1,72-3,70)
Cloridrato de donepezila	5,95 (4,50 – 7,40)

CI_{50} :Concentração Inibitória média de AChE; IC: Índice de confiança.

O óleo de *S. botocudorum* revelou uma Concentração Inibitória média da enzima de AChE equivalente àquelas observadas para os controles positivos Lannate e Cloridrato de donepezila

O resultado da inibição da AChE observado para o óleo *S. botocudorum* pode indicar que o modo de ação do óleo frente à praga *Tetranychus urticae* acontece pela inibição da acetilcolinesterase. Este resultado é confirmado por dados da literatura em que um dos modos de ação dos pesticidas e acaricidas comerciais ocorre por ação sobre a enzima acetilcolinesterase (IRAC, 2024). Uma das táticas mais importantes de manejo de pragas que minimizam o surgimento de populações resistentes.

Como os ácaros rajados já são resistentes a 96 princípios ativos (IRAC, 2024), a aplicação de pesticidas botânicos à base de óleos essenciais se torna uma alternativa frente a essa resistência tendo em vista que os óleos tem em sua composição química mais de um princípio ativo atuando contra aos danos que são causados pelas pragas nas culturas agrícolas.

Além disso, diversos estudos revelam o efeito de inibição da enzima AChE por meio dos óleos essenciais (Faruque 2023; Alimi *et al.* 2023). Os resultados do teste *in vitro* sugerem que um dos modos de ação da toxicidade do óleo para *T. urticae* está relacionado ao seu efeito na transmissão de sinapses pela inibição de colinesterases. Há relatos na literatura de que os óleos essenciais também atuam como inibidores de outras substâncias, como as trifosfatases (ATPases) e o receptor do ácido gama-aminobutírico (GABA) (Enan 2001; Guo *et al.*, 2009; Zahran *et al.*, 2014). Os múltiplos modos de ação possíveis dos monoterpênicos e sesquiterpênicos tornam os óleos essenciais úteis para o controle de pragas, diminuindo a possibilidade de desenvolvimento de resistência.

6.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O óleo essencial das folhas da *S. botocudorum* foi analisado quanto a seu potencial sequestrador de radicais livres DPPH[•] e ABTS^{•+}. O índice de atividade antioxidante para os radicais livres DPPH[•] foi calculado de acordo com Scherer e Godoy, 2009.

Na Tabela 5 é apresentado os resultados da concentração efetiva média (CE₅₀) do teste DPPH[•] e ABTS^{•+} do óleo da *S. botocudorum*.

Tabela 5. Atividade antioxidante (CE₅₀ µg/ml) do óleo essencial das folhas da *S. botocudorum*.

Amostra	DPPH (IC 95%)	ABTS (IC 95%)
<i>S. botocudorum</i>	110,3 (103,3 – 117,8)	49,23 (42,44 – 56,11)
Ác. ascórbico	1,6 (1,4-1,8)	-
TROLOX	-	4,1 (3,7-5,8)

CE₅₀: Concentração Efetiva média; Ácido ascórbico e Trolox: (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico).

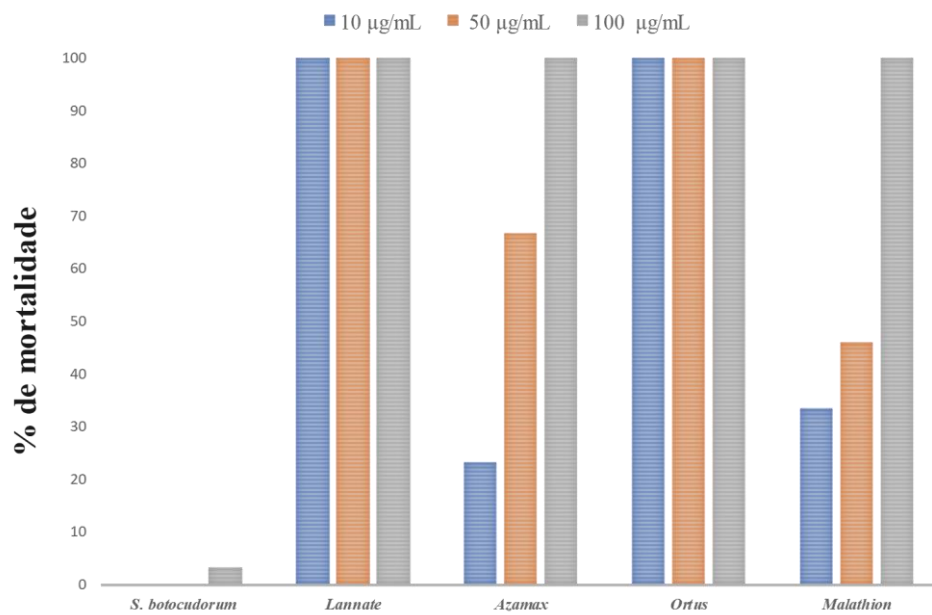
O óleo apresentou uma maior atividade antioxidante para o teste ABTS ⁺⁺ do que no teste de DPPH. Os controles positivos ácido ascórbico e TROLOX mostraram uma maior ação antioxidante do que a observada para o óleo de *S. botocudorum*.

Esse resultado pode ser atribuído a composição química da planta em que teve como maior percentual os compostos da classe dos sesquiterpenos oxigenados de apenas um total de 22,57% em sua composição. Segundo Pandini (2014) e Ding *et al.*, (2011) os compostos terpênicos também podem atuar como excelentes antioxidantes naturais. Os sesquiterpenos exercem atividades antioxidantes contra a peroxidação lipídica e redução de radicais livres.

6.5 TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL E DOS PESTICIDAS COMERCIAIS FRENTE A ARTEMIA SALINA.

Na Figura 30 é mostrado o percentual de mortalidade do óleo *S. botocudorum* e dos inseticidas/acaricidas comerciais Lannete, Azamax, Orthus e Malathion sobre *Artemia salina*.

Figura 30. Toxicidade das artemias do óleo essencial das folhas de *S. botocudorum* e inseticidas comerciais sobre *Artemia salina*



Fonte: Autora (2024).

O óleo das folhas de *S. botocudorum* se mostrou atóxico aos náuplios de *A. salina* nas concentrações de 10-100 µg/mL. Por outro lado, os inseticidas comerciais lannete e ortus se mostraram tóxicos aos nauplios de *A. salina* a concentrações de 10 µg/mL. Já os inseticidas azamax e malathion apresentaram 100% de mortalidade a concentrações de 100 µg/mL.

Como óleo da *S. botocudorum* não se mostrou tóxico em torno dessas concentrações que foram estipuladas inicialmente, foi necessário a realização do teste com novas concentrações para que pudesse obter uma concentração referente a toxicidade do óleo sobre os nauplios das artemiais. Então, após a realização dessas novas concentrações analisou que na concentração de 700 µg/mL, o óleo essencial de *S. botocudorum* se mostrou tóxico sobre *A. salina*. Sendo assim, óleo pode ser classificado como não tóxico de acordo o método descrito por Dolabella (1997), que classifica a toxicidade sobre *A. salina* como altamente tóxico para $CL_{50} < 80$ µg/mL; moderadamente tóxica para CL_{50} entre 80 e 250 µg/mL; e não tóxica para $CL_{50} > 250$ µg/mL.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo essencial folhas de *S. botocudorum* coletado em Pernambuco apresentou um bom rendimento do óleo essencial. Análise da composição química do óleo essencial revelou predominância de sesquiterpenos. Este é o primeiro relato da atividade acaricida do óleo essencial das folhas de *S. botocudorum* sobre o *Tetranychus urticae*. O óleo se mostrou tóxico ao ácaro rajado nos bioensaio residual sobre diferentes fases de desenvolvimento do ácaro (adultos e ovos).

O óleo apresentou atividade repelência sobre o *T. urticae* as concentrações subletais (CL₁₀ e CL₃₀) do óleo se mostraram efetivas em períodos de 48h. Este também é o primeiro relato sobre a atividade de inibição da acetilcolinesterase e pode-se concluir que é a via de atuação é pela acetilcolinesterase tendo em vista que inibiu e teve uma CL₅₀ de 2,90.

O teste de toxicidade realizado com *Artemia salina* mostraram que o óleo tem uma baixa toxicidade sobre os náuplios, pois apresentou toxicidade em uma concentraç acima 700 µg/mL. Sendo também o primeiro relato sobre a toxicidade frente a *artemia salina*. O óleo revelou propriedades antioxidade nos métodos de sequestro de radicais livres ABTS^{•+} e DPPH[•] logo este é o primeiro relato da atividade antioxidante dessa espécie *S botocodurum*.

Esses resultados mostram que o óleo essencial de *S botocodurum* tem potencial, para se tornar um acaricida botânico. Porém, outros testes como estudos de campo e testes de toxicidade sobre organismo não alvo precisam ser realizados.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**, Allured Publishing Corporation, Ed. 4.1, 2017.
- ALILOU, H. AKSSIRA, M. Chemical composition, antibacterial, antioxidant and insecticidal activities of moroccan *Thapsia transtagana* essential oil. **Saudi journal of biological sciences**, v. 28, n. 12, p. 6756-6764, 2021.
- ALIMI *et al.*, Pistacia lentiscus essential oil and its pure active components as acaricides to control *Dermanyssus gallinae* (Acari: Mesostigmata). **Veterinary Parasitology**. 322:110028, 2023.
- AIMEIDA *et al.*, Botocudorol, a new bisabolene typer nor-sesquiterpenoid from *Saparattanthelium botocudorum*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.2, n 2, 1991.
- ALMEIDA, J. R. **Estudos de modelagem molecular e relação estrutura-atividade da acetilcolinesterase e inibidores em Mal de Alzheimer**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- ALVES, N. V. et al. Potencial farmacológico dos óleos essenciais: uma atualização. In: **Práticas Integrativas e Complementares: Visão Holística e Multidisciplinar**. Editora Científica Digital, 2022. p. 144-160.
- AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant activity of essential oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 46, p. 10835-10847, 2013.
- ARAUJO, C. A. **Bioprospecção de Espécies de Piper Através de Técnicas Metabolômicas: Busca por Moléculas/Formulações com Potencial Inseticida Contra *Plutella xylostella*** 2022. Tese de doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- ARAÚJO, M. J. *et al.*, Acari-cidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 57, n. 2, p. 139-155, 2012.
- ARAÚJO, M. J. C. et al. Propriedade acaricida e ação repelente sobre *Tetranychus urticae* Koch de óleos essenciais de três espécies de *Piper* que ocorrem em fragmentos da Mata Atlântica de Pernambuco-Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 3, 2020.
- ARAÚJO JR, C. P. et al. Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three Citrus species cultivated in NE Brazil. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 3, p. 471-476, 2010.
- ATIK, D. M. **Avaliação da atividade antiviral de compostos triterpênicos contra o Vírus Sincicial Respiratório**. 2020. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
- AWAD, S. E. et al. Chemical Characterization of Clove, Basil and Peppermint Essential Oils; Evaluating Their Toxicity on the Development Stages of Two-Spotted Spider Mites Grown on Cucumber Leaves. **Life**, v. 12, n. 11, p. 1751, 2022.

BASSO, C.; SIQUEIRA, A. C. F.; SANTOS, R. N. S. P. Impactos na saúde humana e no meio ambiente relacionados ao uso de agrotóxicos: Uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e43110817529-e43110817529, 2021.

BENELLI, G. *et al.*, Acute and sub-lethal toxicity of eight essential oils of commercial interest against the filariasis mosquito *Culex quinquefasciatus* and the housefly *Musca domestica*. **Industrial crops and products**, v. 112, p. 668-680, 2018.

BENSOUSSAN, N. *et al.*, Plant-herbivore interaction: dissection of the cellular pattern of *Tetranychus urticae* feeding on the host plant. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1105, 2016.

Bizzo, H. R., & Rezende, C. M. O Mercado de Óleos Essenciais no Brasil e no Mundo na Última Década. **Química Nova**, v. 45, p. 949 – 958, 2022.

BORGES, L. L. *et al.*, Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. 2011.

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, p. 491-502, 2018.

CAMPOS, E. V.R. *et al.*, Neem oil and crop protection: from now to the future. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1494, 2016.

CASTRO, A. C. C. M. Estudo in vitro da ação de metabólitos secundários do extrato aquoso de *Phyllanthus niruri* L. e de seus produtos de degradação. 2018.

CHANDRASEKAR, D. *et al.*, Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: A sensitive screening method for polyherbal formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 40, 460-464. 2006.

COSTA, J. A. V. *et al.*, Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 54, n. 5, p. 366-375, 2019.

DAWKAR, V. V. *et al.*, Molecular insights into resistance mechanisms of lepidopteran insect pests against toxicants. **Journal of Proteome Research**, v. 12, n. 11, p. 4727-4737, 2013.

DIMA, Cristian; DIMA, Stefan. Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. **Current Opinion in Food Science**, v. 5, p. 29-35, 2015.

DING, Yan *et al.* Antioxidative sesquiterpenes from *Artemisia iwayomogi*. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 32, n. 9, p. 3493-3496, 2011.

DINIZ, Lucio Ricardo Leite. Efeito das saponinas triterpênicas isoladas das raízes da *ampelozizyphus amazonicus* ducke sobre a função renal. 2006.

DOLABELA, M. F. Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti *Trypanossoma cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. 1997. 130 p. **Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte**, 1997.

DUTRA, Q. P. *et al.* Phytocytotoxicity of volatile constituents of essential oils from *Sparattanthelium* Mart. species (Hernandiaceae). **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 12213, 2020.

EL ASBAHANI, A. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.

EMBRAPA. Embrapa mostra a importância do Manejo Integrado de Pragas na Agri-show. Documento eletrônico. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1671932/embrapa-mostra-a-importancia-do-manejo-integrado-de-pragas-na-agrishow>>. Acesso em: 02 jun. 2021

ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 130, n. 3, p. 325-337, 2001.

FADINI, M. A. M.; PALLINI, A.; VENZON, M. Controle de ácaros em sistema de produção integrada de morango. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1271-1277, 2004.

FAROUK, S. *et al.*, Acaricidal efficacy of jasmine and lavender essential oil or mustard fixed oil against two-spotted spider mite and their impact on growth and yield of eggplants. **Biology**, v. 10, n. 5, p. 410, 2021.

FARUQUE, M. *et al.*, Sialagogic Effects Through Olfactory Stimulation with Mastic Resin and α -pinene Volatiles in vivo. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 168, p. 115699, 2023.

GARTIA, J. *et al.*, NMR structure and dynamics of inhibitory repeat domain variant 12, a plant protease inhibitor from *Capsicum annuum*, and its structural relationship to other plant protease inhibitors. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, 2019.

GUO, Zhi-bo *et al.*, Inhibition of Na⁺, K⁺-ATPase in housefly (*Musca domestica* L.) by terpinen-4-ol and its ester derivatives. **Agricultural Sciences in China**, v. 8, n. 12, p. 1492-1497, 2009.

GUZZO, E. C. *et al.*, XXVI Congresso Brasileiro de Entomologia IX Congresso Latino-Americano de Entomologia Anais. 2016.

HELLE, W.; SABELIS, M. W. (Ed.). **Spider mites: their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1985.

Hernandiaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17770>>. Acesso em: 11 fev. 2024.

HIROTA, B. C. K. *et al.*, AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE IN VITRO: APLICABILIDADE DO ENSAIO DE LETALIDADE FRENTE À *Artemia salina*. **Visão Acadêmica**, [S.l.], v. 13, n. 2, nov. 2012. ISSN 1518-8361. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/27834>>. Acesso em: 14 mar. 2024. doi:<http://dx.doi.org/10.5380/acd.v13i2.27834>.

HORVATHOVA, E. *et al.*, Assessment of antioxidative, chelating, and DNA-protective effects of selected essential oil components (eugenol, carvacrol, thymol, borneol, eucalyptol) of plants and intact *Rosmarinus officinalis* oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 28, p. 6632-6639, 2014.

Instituto Nacional de Câncer. Ministério da Saúde. Agrotóxicos. INCA, (2019).

IRAC- Comitê de ação à resistência a inseticidas. Modo de ação inseticidas e acaricidas. Disponível em: <https://www.irac-br.org/modo-de-acao>. Acesso: 01 fev. 2024.

JAYARAJ, R.; MEGHA, P.; SREEDEV, P. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. **Interdisciplinary toxicology**, v. 9, n. 3-4, p. 90, 2016.

- JOKANOVIĆ, M. Neurotoxic effects of organophosphorus pesticides and possible association with neurodegenerative diseases in man: A review. **Toxicology**, v. 410, p. 125-131, 2018.
- JONATAN, T. Introduction of environmental studies. 3rd ed. New York: Saunders College, 1989. 304 p.
- KANT, M. R. *et al.*, Mechanisms and ecological consequences of plant defence induction and suppression in herbivore communities. **Annals of botany**, v. 115, n. 7, p. 1015-1051, 2015.
- Knapik, L. P. O. Ecotoxicidade do Inseticida Malathion e seus efeitos sobre os biomarcadores ensaio cometa e acetilcolinesterase em *Daphnia magna*. 2018. Dissertação de mestrado. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Curitiba.
- KUMAR, R. *et al.*, Impact of pesticide toxicity in aquatic environment. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 10131-10140, 2021.
- KUSKOSKI, E.M. *et al.*, Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.
- LAGE, T. C. A. *et al.*, Chemical composition and acaricidal activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* De Candolle (1836) and its constituents nerolidol and limonene on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 148, p. 24-29, 2015.
- LEBOUVIER, N. *et al.*, Acaricidal activity of essential oils from five endemic conifers of New Caledonia on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasitology Research**, v. 112, p. 1379-1384, 2013.
- LI, Y. *et al.*, **Essential oils as reagents in green chemistry**. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2014.
- LOPES, C. V. A; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.
- LOPES, R. P. *et al.*, Chemical characterization and evaluation of acaricidal potential of rosemary essential oil and its main compound α -pinene on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. **Natural Product Research**, v. 37, n. 17, p. 2940-2944, 2023.
- LUNA, J.S. *et al.*, A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.97, n.2, p.199-206, 2005.
- LYU, X; LEE, J; CHEN, Z. N. Potential natural food preservatives and their sustainable production in yeast: terpenoids and polyphenols. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 16, p. 4397-4417, 2019.
- MAHFUD, M. *et al.*, Extraction of essential oil from Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) by hydrodistillation and steam distillation methods. **Journal of Chemical Technology and Metallurgy**, v. 52, n. 5, p. 791-796, 2017.
- MANGAS, I. *et al.*, Neurotoxic effects associated with current uses of organophosphorus compounds. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 809-825, 2016.

MARCHESINI, P. *et al.*, Acaricidal activity of (*E*)-cinnamaldehyde and α -bisabolol on populations of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) with different resistance profiles. **Veterinary Parasitology**, v. 286, p. 109226, 2020.

MATOS, R.S.; ROSA, P.; BRITO, L.C.M.; PAULA, L.G.F.; ZERINGOTA, V.; MONTEIRO, C.M.O.; DAEMON, E.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Thymol: effects on reproductive biology and Gene's organ morphology in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato engorged females (Acari: Ixodidae). *Ticks and Tick-borne Diseases*, v. 11, n. 1, 101308, 2020.

MANFRA, L. *et al.*, Lethal and sublethal endpoints observed for *Artemia* exposed to two reference toxicants and an ecotoxicological concern organic compound. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [s.l.], v. 123, p.60-64, jan. 2016.

MEYER, B.N. *et al.*, Brine Shrimp: A Convenient Geral Biossay for Active Plant Constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**. v.45, p. 31-34, 1982.

MORAES, G. J.; FLECHTMANN, C. H. W. Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. 2008.

NATAL, C. M. **Derivados de compostos naturais com potencial aplicação como biopesticidas**. 2021. Tese de Doutorado.

NIĆIFOROVIĆ, N. *et al.*, Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3125-3130, 2010.

OWEN, S. M.; PEÑUELAS, J. Opportunistic emissions of volatile isoprenoids. **Trends in plant science**, v. 10, n. 9, p. 420-426, 2005.

OTONI, T. C. O. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas com fins medicinais e cosméticos em comunidades tradicionais do município de Araçuaí, Minas Gerais. 2018. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

PANDINI, J. A. *et al.*, Composição química, atividade antimicrobiana, inseticida e antioxidante do óleo essencial e extratos de *Guarea kunthiana* A. Juss. 2014.

PATRA, J. K. *et al.*, Selected commercial plants: A review of extraction and isolation of bioactive compounds and their pharmacological market value. **Trends in Food Science & Technology**, v. 82, p. 89-109, 2018.

PEREIRA, C. A.B. *et al.*, Cinnamoyltyramine derivatives and other constituents from *Sparattanthelium tupiniquorum* (Hernandiaceae). **Biochemical systematics and ecology**, v. 35, n. 9, p. 637-639, 2007.

PEREIRA, J. C. R. *et al.* Análise de toxicidade do herbicida glifosato em *Artemia salina* (Linnaeus, 1758): Toxicity analysis of glyphosate herbicide in *Artemia salina* (Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 5, n. 3, p. 3229-3238, 2022.

PETRONILHO, E. C.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Agents for defense against chemical warfare: Reactivators of the inhibited acetylcholinesterase with organophosphorus neurotoxic compounds. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 3, p. 671-686, 2014.

- PIRAMOON, P. *et al.*, Toxicity and sublethal effects of plant essential oils on life history and detoxification enzymes activity of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Toxin Reviews**, v. 41, n. 4, p. 1191-1198, 2022.
- PISZCZ, Paweł *et al.*, Comparative analysis of antioxidative activity of flavonoids using HPLC–ED and photometric assays. **Food Analytical Methods**, v. 7, p. 1474-1480, 2014.
- RE, Roberta *et al.*, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.
- REFLORA. Flora e Funga no Brasil. *Sparattanthelium botocudorum* Mart. Disponível em: <https://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB602371>. Acesso: 20. Fev 2024.
- RIBEIRO, N.; CAMARA, C.; RAMOS, C. Toxicity of essential oils of *Piper marginatum* Jacq. against *Tetranychus urticae* Koch and *Neoseiulus californicus* (McGregor). **Chilean journal of agricultural research**, v. 76, n. 1, p. 71-76, 2016.
- ROH, H. S; LEE, B. H; PARK, C. G. Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 16, n. 3, p. 245-249, 2013.
- SAIN, S. K. *et al.*, Compatibility of entomopathogenic fungi with insecticides and their efficacy for IPM of *Bemisia tabaci* in cotton. **Journal of Pesticide Science**, v. 44, n. 2, p. 97-105, 2019.
- SAMARADIVAKARA, S. P. *et al.*, Cholinesterase, protease inhibitory and antioxidant capacities of Sri Lankan medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 227-234, 2016.
- SANTAMARIA, M. E. *et al.*, Plant defenses against *Tetranychus urticae*: mind the gaps. **Plants**, v. 9, n. 4, p. 464, 2020.
- SANTOS, M. H. *et al.*, Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, p. 604-610, 2007.
- SHARMA, A. *et al.*, Global trends in pesticides: A looming threat and viable alternatives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 201, p. 110812, 2020.
- SILVA, T. M. S. *et al.*, Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. **Journal of food composition and analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 507-511, 2006.
- SILVA, M. *et al.*, Insecticidal and acaricidal activity of essential oils rich in (*E*)-nerolidol from *Melaleuca leucadendra* occurring in the state of Pernambuco (Brazil) and effects on two important agricultural pests. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 813-820, 2020.
- SILVA, M. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADE ACARICIDA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Syzygium aromaticum*, *Melaleuca leucadendra*, *Piper aduncum* E DE SUAS MISTURAS BINÁRIAS SOBRE O *Tetranychus urticae* 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

SIMÕES, C. M. O. *et al.*, **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora UFSC. 5 ed, P.404, 2004.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição**, v. 15, p. 71-81, 2002.

SOBRINHO, A. C. N. *et al.*, Chemical composition, antioxidant, antifungal and hemolytic activities of essential oil from *Baccharis trinervis* (Lam.) Pers. (Asteraceae). **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 108-115, 2016.

SOUZA, A. **Variabilidade dos óleos voláteis de espécies de Myrtaceae nativas da Mata Atlântica**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SUSURLUK, H. Potential use of essential oils from *Origanum vulgare* and *Syzygium aromaticum* to control *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two host plant species. **PeerJ**, v. 11, p. e14475, 2023.

TAK, Jun-Hyun; ISMAN, M. B. Acaricidal and repellent activity of plant essential oil-derived terpenes and the effect of binary mixtures against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 786-792, 2017.

TAKEDA, N. *et al.*, A vegetable oil-based biopesticide with ovicidal activity against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. **Engineering in Life Sciences**, v. 20, n. 11, p. 525-534, 2020.

ULUKANLI, Z. *et al.*, Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean *Pinus brutia* and *Pinus pinea* resin essential oils. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 12, n. 12, p. 901-910, 2014.

VAN, DEN BOOM, C. E. M.; VAN B. T. A.; DICKE, M. Differences among plant species in acceptance by the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. **Journal of Applied Entomology**, v. 127, n. 3, p. 177-183, 2003.

VELLOSA, J. C. R. *et al.*, Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152-10168, 2021.

VINATEA, J.E. Artêmia um ser vivo excepcional. Panorama da Aquicultura, 1994.

WASEEM, R.; Low, K. H. Advanced analytical techniques for the extraction and characterization of plant-derived essential oils by gas chromatography with mass spectrometry. **J. Sep. Sci.** 2015, 38, 483–501.

YAHYA, N. A.; ATTAN, N.; WAHAB, R. A. An overview of cosmeceutically relevant plant extracts and strategies for extraction of plant-based bioactive compounds. **Food and bioproducts processing**, v. 112, p. 69-85, 2018.

YAKOUBI, Rima et al. A synergistic interactions of Algerian essential oils of *Laurus nobilis* L., *Lavandula stoechas* L. and *Mentha pulegium* L. on anticholinesterase and antioxidant activities. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 31, p. 101891, 2021.

YOUSE, M.; Rahimi-nasrabadi, M.; Pourmortazavi, S. M.; Wysokowski, M.; Jesionowski, T.; Ehrlich, H.; Mirsadeghi, S. Supercritical fluid extraction of essential oils. *Trends Anal. Chem.* 2019, 118, 182–193.

ZAHARAN, H. El-Din M.; ABOU-TALEB, H. K.; ABDELGALEIL, S. A. M. Adulticidal, larvicidal and biochemical properties of essential oils against *Culex pipiens* L. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, n. 1, p. 133-139, 2017.