

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS**

ANILDE DA GRAÇA SOUSA MACIEL

Preparo do microencapsulado de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) e toxicidade letal e subletal do microencapsulado a *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae)

**Rio Largo, AL
2018**

ANILDE DA GRAÇA SOUSA MACIEL

Preparo do microencapsulado de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) e toxicidade letal e subletal do microencapsulado a *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Proteção de Plantas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Roseane Cristina Predes Trindade

Coorientador: Prof. Dr. Edmilson Santos Silva

Rio Largo, AL
2018

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale – CRB4-661

- M152p Maciel, Anilde da Graça Sousa.
Preparo do microencapsulado de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) e toxicidade letal e subletal a *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) / Anilde da Graça Sousa Maciel. – 2018.
97 f.: il.
- Orientadora: Roseane Cristina Predes Trindade.
Coorientador: Edmilson Santos Silva.
Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2018.
- Inclui bibliografia.
1. Ácaro de plantas – Controle. 2. Pinha. 3. *Annona squamosa* L. 4. Acaricida botânico. 5. Microencapsulação. I. Título.

CDU: 632.9

ANILDE DA GRAÇA SOUSA MACIEL

Preparo do microencapsulado de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) e toxicidade letal e subletal do microencapsulado a *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae)

Tese submetida à banca avaliadora como requisito para conclusão do curso de Doutorado em Proteção de Plantas, aprovada no dia 20 de fevereiro de 2018.

Roseane Cristina Predes Trindade

Profª Drª Roseane Cristina Predes Trindade, Universidade Federal de Alagoas
Orientadora

Banca examinadora:

Alice Maria Nascimento de Araújo

Profª Drª Alice Maria Nascimento de Araújo – Universidade Federal de Alagoas

Johnnatan Duarte de Freitas

Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas – Instituto Federal de Alagoas

Mariana Oliveira Breda

Profª Drª Mariana Oliveira Breda – Universidade Federal de Alagoas

Rio Largo, AL
2018

Dedico aos meus pais, Antonio Maciel Filho e Maria da Conceição da Costa Sousa Maciel pelo apoio, dedicação, amor e compreensão!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me conceder saúde, força e paciência para conquistar meus objetivos.

A minha família, que é a base da minha vida, principalmente aos meus pais, Maria da Conceição C. S. Maciel e Antonio Maciel Filho, pelo amor incondicional, pelas orações e apoio em cada escolha da minha vida. Aos meus irmãos Amarildo de Jesus S. Maciel e Anilde da Conceição S. Maciel, pelo apoio e carinho.

Ao meu “amoRRR”, Anderson Rodrigues Sabino, agradeço com todo carinho pela atenção, dedicação, disposição em ajudar e companheirismo.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Roseane Cristina P. Trindade, pela disponibilidade em orientar, apoio dado no trabalho e por todo conhecimento que me foi passado.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Edmilson S. Silva, pela orientação, apoio e conhecimento que me foi passado.

A todos do laboratório de Entomologia/Controle Alternativo do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas - CECA/UFAL, principalmente Mirandy Dias pela parceria nos trabalhos e amizade.

Aos membros do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) da UFAL, principalmente ao Prof. Dr. Antônio Euzébio G. Sant’Ana e ao Sr. Aldy pela ajuda.

Aos membros do Laboratório de Tecnologia de Controle de Medicamentos da Universidade Federal da UFAL, principalmente ao Prof. Dr. Irinaldo Diniz Basílio Júnior, aos alunos Valdemir, Lucas, Gerson, Abiane e Saulo pela disposição em ajudar e apoio aos trabalhos.

Ao Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento, pelo auxílio na análise em cromatografia líquida de alta eficiência no Laboratório de Análises Farmacêuticas e Alimentícias da UFAL.

Ao Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas pelo auxílio no trabalho relacionado à Microscopia Eletrônica de Varredura.

Agradeço aos meus amigos pela companhia nessa jornada, principalmente a Márcia Daniela, Josefa Tatiana, Simone, Djison, Ronycleide, Gilson, Sara, Pedro, David, Alice, Mirandy, Sherlly, Marcos David, Janynne, Fernanda, Leonara, Karen e Jhosué.

A Universidade Federal de Alagoas, principalmente ao Centro de Ciências Agrárias, por ter me proporcionado a oportunidade de realizar o doutorado.

A CAPES, pela concessão de bolsa de estudos.

Aos membros da banca.

RESUMO GERAL

O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), é uma praga que causa perdas consideráveis em frutíferas, hortaliças, plantas ornamentais e medicinais. O controle com a utilização de acaricidas botânicos é uma prática adotada desde a antiguidade e voltou a ser abordada. Esses produtos podem causar efeitos letais e subletais às pragas. No entanto, geralmente possuem uma rápida degradação, o que pode ser minimizado com o preparo de formulações microencapsuladas. A *Annona squamosa* L. (Annonaceae) é uma planta que tem substâncias em sua composição com grande potencial acaricida. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo, a preparação de extratos orgânicos da semente de *A. squamosa*, caracterização química do extrato hexânico de *A. squamosa*, toxicidade letal dos extratos orgânicos a *T. urticae*, preparação e caracterização do microencapsulado de *A. squamosa*, toxicidade letal do microencapsulado a *T. urticae* e toxicidade subletal do extrato hexânico e do microencapsulado a *T. urticae*. Os extratos hexânico e etanólico da semente de *A. squamosa* foram preparados através de extração à frio. Em seguida, as concentrações letais foram estimadas pela análise de Probit. A caracterização química do extrato hexânico foi realizada através da partição do extrato e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) das frações clorofórmica e hidrometanólica. A preparação do microencapsulado foi realizada por *spray drying*, utilizando o extrato hexânico e os polímeros: amido, maltodextrina, gelatina e aerosil. Em seguida, foi feita a caracterização do microencapsulado através da análise de tamanho de partícula, microscopia eletrônica de varredura e estudos termogravimétricos. As concentrações letais do microencapsulado a *T. urticae* foram estimadas pela análise de Probit. Os efeitos subletais foram avaliados através da toxicidade sobre os ovos, efeito repelente, taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) e efeito residual. O extrato hexânico teve CL_{50} e CL_{99} estimadas em 1,41 e 26,05 g/L, respectivamente. Para o extrato etanólico, as CL_{50} e CL_{99} estimadas foram 2,08 e 53,27 g/L, respectivamente. O teste da CLAE mostrou provável presença de acetogéninas no extrato hexânico. O microencapsulado apresentou micropartículas lisas, sem rachaduras, com pouca variação de tamanho e quatro processos de decomposição. O microencapsulado teve CL_{50} e CL_{99} estimadas em 5,37 e 45,26 g/L, respectivamente. O microencapsulado na CL_{99} foi o tratamento que teve a menor viabilidade de ovos com $7,5 \pm 2,70$ % de ovos viáveis. O efeito repelente para o extrato hexânico ocorreu a partir da CL_{95} e para o microencapsulado a partir da CL_{50} . O valor de r_i para ambos produtos decresceu com o aumento das concentrações, no entanto para CL_{95} do microencapsulado o valor foi negativo, indicando declínio da população com tendência a supressão dos ácaros. No efeito residual, observou-se que o microencapsulado na CL_{99} foi eficiente até o 8° DAP com mortalidade de $61,2 \pm 10,4$ %. E o extrato hexânico na CL_{99} foi eficiente até o 15° DAP com mortalidade de $61,2 \pm 11,0$ %, no experimento conduzido em casa de vegetação. Para o experimento de campo 1, o microencapsulado na CL_{99} foi eficiente até o 6° DAP com mortalidade de $61,2 \pm 8,1$ %. E o extrato hexânico na CL_{99} foi eficiente até o 7° DAP com mortalidade de $58,7 \pm 10,3$ %. No experimento de campo 2, o extrato hexânico na CL_{99} , teve eficiência até o 10° DAP, com $75,0 \pm 6,0$ % de mortalidade e o microencapsulado até o 9° DAP com $61,2 \pm 6,1$ % de mortalidade. Conclui-se que tanto o extrato hexânico, quanto o microencapsulado de *A. squamosa* são eficientes no controle de *T. urticae*, podendo causar toxicidade letal e subletal, no entanto, o microencapsulado apresenta propriedades que possam ser favoráveis, pois protege o ingrediente ativo no seu núcleo, diminuindo a contaminação ambiental e do homem.

Palavras-chave: Ácaro rajado. Pinha. Acaricida botânico. Microencapsulação.

ABSTRACT

The two-spotter mite, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) is a pest that causes considerable losses in fruit, vegetables, ornamental and medicinal plants. The control with the use of botanical acaricides is a practice adopted since antiquity and was once again addressed. These products can cause lethal and sublethal effects to pests. However, they generally possess rapid degradation, which can be minimized by the preparation of microencapsulated formulations. The *Annona squamosa* L. (Annonaceae) is a plant that has substances in its composition with great acaricidal potential. The objective of this work was to prepare *A. squamosa* seeds of extracts, chemical characterization of *A. squamosa* of hexanic extract, lethal toxicity of *T. urticae* extracts, preparation and characterization of *A. squamosa* of microencapsulated, toxicity lethal microencapsulated of *T. urticae* and sublethal toxicity of hexanic extract and microencapsulated of *T. urticae*. The hexanic and ethanolic of the seed of *A. squamosa* extracts were prepared by cold extraction. Then, lethal concentrations were estimated by Probit analysis. The chemical characterization of the hexanic extract was performed through the extract partition and high performance liquid chromatography (HPLC) of the chloroform and hydrometanolic fractions. The preparation of the microencapsulated was performed by spray drying, using the hexanic extract and the polymers: starch, maltodextrin, gelatin and aerosil. Next, the characterization of the microencapsulated was performed through particle size analysis, scanning electron microscopy and thermogravimetric studies. The lethal concentrations of *T. urticae* microencapsulated were estimated by Probit analysis. The sublethal effects are evaluated through the ovicidal effect, repellent effect, instantaneous rate of population growth (r_i) and residual effect. The hexanic extract had LC_{50} and LC_{99} estimated at 1.41 and 26.05 g/L, respectively. For the ethanolic extract, the estimated LC_{50} and LC_{99} were 2.08 and 53.27 g/L, respectively. The HPLC test showed a probable presence of acetogenins in the hexanic extract. The microencapsulated presented smooth microparticles, with no cracking, with little variation in size and four decomposition processes. The microencapsulated had LC_{50} and LC_{99} estimated at 5.37 and 45.26 g/L, respectively. The microencapsulated in LC_{99} was the treatment that had the lowest viability of eggs with 7.5 ± 2.70 % of viable eggs. The repellent effect for the hexanic extract occurred from LC_{95} and microencapsulated from LC_{50} . The value of (r_i) for both products decreased with increasing concentrations, however for LC_{95} of the microencapsulated the value was negative, indicating a decline in the population with a tendency to suppress mites. In the residual effect, it was observed that the microencapsulated in the LC_{99} was efficient until the 8th DAP with mortality of 61.2 ± 10.4 %. And the hexanic extract in the LC_{99} was efficient until the 15 th DAP with mortality of 61.2 ± 11.0 %, in the experiment conducted in greenhouse. For the field experiment 1, the microencapsulated in the LC_{99} was efficient until the 6th DAP with a mortality of 61.2 ± 8.1 %. And the hexanic extract in LC_{99} was efficient until the 7th DAP with mortality of $58.7 \pm 10.3\%$. In the field experiment 2, hexanic extract in CL_{99} had efficiency up to 10th DAP, with 75.0 ± 6.0 % mortality and microencapsulation up to 9th DAP with 61.2 ± 6.1 % mortality. It is concluded that both the hexanic and microencapsulated extracts of *A. squamosa* are efficient in controlling *T. urticae*, which may cause lethal and sublethal toxicity. However, the microencapsulate has properties that may be favorable because it protects the active ingredient in the its core, reducing environmental and man-made contamination.

Key words: Two-spotter mite. Sugar apple. Botanical acaricide. Microencapsulation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estágios de desenvolvimento do ácaro rajado, <i>Tetranychus urticae</i>	17
Figura 2 - Representação esquemática da microencapsulação por <i>spray drying</i>	26
Figura 3 - Esquema ilustrativo dos tipos de micropartículas poliméricas	27
Figura 4 - Esquema de partição líquido-líquido com diferentes solventes no extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i>	49
Figura 5 - Cromatograma obtido por CLAE da fração clorofórmica do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i>	54
Figura 6 - Espectros de absorção dos constituintes referentes aos maiores picos (6, 7, 10, 21 e 23) da fração clorofórmica do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i>	55
Figura 7 - Cromatograma obtido por CLAE da fração hidrometanólica do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i> e espectros de absorção dos constituintes referentes aos maiores picos.	57
Figura 8 - Espectros de absorção dos constituintes referentes aos maiores picos (6, 8, 11, 14 e 28) da fração hidrometanólica do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i>	57
Figura 9 - Distribuição de tamanho de partícula do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> obtida por difração a laser	60
Figura 10 - Fotomicrografias do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> . Aumento de (A) 500x, (B) 1000x, (C) 2000x e (D) 5000x.....	61
Figura 11 - Curvas de TGA do microencapsulado, do extrato hexânico de <i>Annona squamosa</i> e dos materiais de revestimento aplicados nos estudos de microencapsulação	63
Figura 12 - Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de <i>Tetranychus urticae</i> expostos a concentrações do extrato hexânico de <i>Annona squamosa</i> (A) e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> (B)	85
Figura 13 - Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> (CL_{50} e CL_{99}) sobre <i>Tetranychus urticae</i> inoculado até 15 dias após pulverização em plantas de feijão-de-porco na casa de vegetação	87
Figura 14 - Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> (CL_{50} e CL_{99}) sobre <i>Tetranychus urticae</i> inoculado até 15 dias após pulverização em plantas de feijão-de-porco no campo, experimento 1	88

Figura 15 - Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* (CL₅₀ e CL₉₉) sobre *Tetranychus urticae* inoculado até 15 dias após pulverização em plantas de feijão-de-porco no campo, experimento 2 90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Porcentagem do material excipiente utilizado no preparo da formulação	50
Tabela 2 - Concentração letal (CL) (g/L) dos extratos orgânicos da semente de <i>Annona squamosa</i> sobre <i>Tetranychus urticae</i>	52
Tabela 3 - Toxicidade das frações do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i> a <i>Tetranychus urticae</i>	54
Tabela 4 - Principais picos obtidos por CLAE da fração clorofórmica do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i>	56
Tabela 5 - Principais picos obtidos por CLAE da fração hidrometanólica do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i>	58
Tabela 6 - Índice de Polidispersidade e diâmetro médio de partículas em volume D [4,3] do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i>	60
Tabela 7 - Dados termogravimétricos do microencapsulado, do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i> e dos materiais de revestimento aplicados nos estudos de microencapsulação	63
Tabela 8 - Concentração Letal (CL) (g/L) do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> sobre <i>Tetranychus urticae</i>	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CECA - Centro de Ciências Agrárias

CLs - Concentrações letais

CLAE- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CV - Coeficiente de variação

DAP - Dias após a pulverização

DP - Desvio padrão

EP - Erro padrão

GL - Grau de liberdade

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IOBC/WPRS - *International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/ West Palearctic Regional Section*

IR - Índice de repelência

ITEP - Instituto Tecnológico de Pernambuco

Kv - Kilovolt

Ma – Miliampère

MEV - Microscópio eletrônico de varredura

TGA - Estudos termogravimétricos

UFAL - Universidade Federal de Alagoas

UR - Umidade relativa

UV - Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	<i>Tetranychus urticae</i> (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae).....	16
2.2	Injúrias e danos causados pelo ácaro rajado, <i>Tetranychus urticae</i>	18
2.3	Controle do ácaro rajado, <i>Tetranychus urticae</i>	19
2.4	Família Annonaceae	21
2.4.1	<i>Annona squamosa</i>	22
2.4.2	Princípio ativo das anonáceas	23
2.5	Controle de ácaros com produtos de origem botânica	24
2.6	Microencapsulação	25
2.7	Agentes encapsulantes	28
2.7.1	Amido	29
2.7.2	Maltodextrina.....	29
2.7.3	Gelatina.....	30
2.7.4	Dióxido de silício coloidal.....	30
	REFERÊNCIAS	32
3	PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DO MICROENCAPSULADO DO EXTRATO DA SEMENTE DE <i>Annona squamosa</i> L. (ANNONACEAE) E TOXICIDADE LETAL A <i>Tetranychus urticae</i> (KOCH, 1836) (ACARI: TETRANYCHIDAE) ..	43
	RESUMO	43
	ABSTRACT	44
3.1	Introdução	45
3.2	Material e Métodos	46
3.2.1	Obtenção e criação do ácaro <i>Tetranychus urticae</i>	46
3.2.2	Preparo dos extratos orgânicos da semente de <i>Annona squamosa</i>	46
3.2.3	Toxicidade letal dos extratos orgânicos a <i>Tetranychus urticae</i>	47
3.2.4	Caracterização química do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i>	48
3.2.4.1	Partição líquido-líquido do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i>	48
3.2.4.2	Análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	49
3.2.5	Microencapsulação do extrato da semente de <i>Annona squamosa</i>	50
3.2.6	Caracterização do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i>	50

3.2.6.1	Análise de tamanho de partículas do microencapsulado	50
3.2.6.2	Caracterização morfológica do microencapsulado através do microscópio eletrônico de varredura (MEV)	51
3.2.6.3	Estudos Termogravimétricos (TGA)	51
3.2.7	Toxicidade letal do microencapsulado a <i>Tetranychus urticae</i>	51
3.3	Resultados e Discussão	52
3.3.1	Toxicidade letal dos extratos orgânicos da semente de <i>Annona squamosa</i> a <i>Tetranychus urticae</i>	52
3.3.2	Caracterização química do extrato hexânico da semente de <i>Annona squamosa</i>	53
3.3.3	Caracterização do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i>	59
3.3.3.1	Análise de tamanho de partículas do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i>	59
3.3.3.2	Caracterização morfológica do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> através do microscópio eletrônico de varredura (MEV)	61
3.3.3.3	Estudos Termogravimétricos (TGA)	62
3.3.3.4	Toxicidade letal do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> a <i>Tetranychus urticae</i>	64
3.4	Conclusões	66
	REFERÊNCIAS	67
4	EFEITOS LETAIS E SUBLETAIS DO EXTRATO HEXÂNICO E DO MICROENCAPSULADO DE <i>Annona squamosa</i> L. (ANNONACEAE) A <i>Tetranychus urticae</i> (Koch, 1836) (ACARI: TETRANYCHIDAE).....	71
	RESUMO.....	71
	ABSTRACT	72
4.1	Introdução	73
4.2	Material e Métodos	74
4.2.1	Obtenção e criação do ácaro <i>Tetranychus urticae</i>	74
4.2.2	Preparo dos extratos orgânicos da semente de <i>Annona squamosa</i>	74
4.2.3	Microencapsulação do extrato da semente de <i>Annona squamosa</i>	75
4.2.4	Concentrações letais do extrato hexânico e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> sobre fêmeas <i>Tetranychus urticae</i>	76
4.2.5	Efeito ovicida do extrato hexânico e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> a <i>Tetranychus urticae</i>	77
4.2.6	Efeito repelente do extrato hexânico e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> a <i>Tetranychus urticae</i>	77
4.2.7	Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de <i>Tetranychus urticae</i>	78

4.2.8	Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> sobre <i>Tetranychus urticae</i>	79
4.3	Resultados e Discussão	80
4.3.1	Toxicidade do extrato hexânico e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> sobre ovos de <i>Tetranychus urticae</i>	81
4.3.2	Efeito repelente do extrato hexânico e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> a <i>Tetranychus urticae</i>	82
4.3.3	Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de <i>Tetranychus urticae</i>	84
4.3.4	Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de <i>Annona squamosa</i> sobre <i>Tetranychus urticae</i>	86
4.4	Conclusões	93
	REFERÊNCIAS	94

1 INTRODUÇÃO GERAL

O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), é uma das pragas mais importantes ao nível mundial com perdas consideráveis em diversas culturas economicamente importantes, entre elas, espécies de frutíferas, hortaliças, plantas ornamentais e medicinais (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Em altas infestações esse ácaro pode causar descoloração de folhas, seguida de uma necrose, perda da capacidade fotossintética, queda precoce da mesma e, eventualmente, morte das plantas. Além disso, o acúmulo de excrementos e teias afeta a aparência das plantas e diminui o valor comercial (DEVINE; BARBER; DENHOLM, 2001; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O controle químico ainda é o mais utilizado, no entanto, o uso intensivo de acaricidas químicos sintéticos tem selecionado populações de ácaros resistentes (NICASTRO; SATO; SILVA, 2010). Atualmente há registro de 501 casos de resistência de *T. urticae* a acaricidas em 95 ingredientes ativos (APRD, 2018).

Além disso, o uso indiscriminado de acaricidas químicos pode causar a ressurgência de pragas, devido à mortalidade dos inimigos naturais, contaminação ao meio ambiente e ao homem (MEYER; KOVALESKI; VALDEBENITO-SANHUEZA, 2009; MARSARO JÚNIOR et al., 2012).

Os efeitos mencionados acima podem ser atenuados com a utilização de acaricidas botânicos, devido a características peculiares, por serem produtos naturais provenientes de recursos renováveis e compostos de uma mistura de vários ingredientes bioativos, agindo sinergicamente, previnem a seleção de populações resistentes (BARRETO, 2005). Além disso, apresentam rápida degradação, podendo reduzir o impacto aos inimigos naturais, ao homem e ao ambiente (BRITO et al., 2008a).

No entanto, a rápida degradação também é considerada uma desvantagem, pois geralmente, os intervalos entre as aplicações são curtos, o que aumenta os custos para o produtor (PAVELA; BENELLI, 2016). Uma alternativa para amenizar essa rápida degradação é o preparo de formulações, que apresentam características de estabilidade e liberação lenta, como por exemplo, formulações microencapsuladas.

Existem duas grandes barreiras ao setor brasileiro de inseticidas botânicos que precisam ser vencidas. A primeira, é que existe a necessidade de pesquisa e desenvolvimento de produtos estáveis e padronizados, com tempo de ação em campo prolongado e mantendo sua baixa toxicidade ao homem e aos organismos não-alvo. A segunda, é que há necessidade de técnicas

de enriquecimento e controle de qualidade nos produtos a serem disponibilizados no comércio assegurando a reprodutibilidade de sua eficácia (MARCOMINI, 2009).

O processo tecnológico de microencapsulação é responsável pela produção de micropartículas que consiste em envolver, com um fino filme de uma matriz qualquer, pequenas gotículas de uma substância ativa, sendo esta chamada de núcleo (GHARSALLAOUI et al., 2007). A microencapsulação pode oferecer um sistema de liberação lenta e controlada dos extratos como forma de diminuir a quantidade de ingrediente ativo aplicado no controle de pragas.

Entre uma diversidade de plantas com potencial inseticida/acaricida destacam-se as espécies da família Annonaceae, distribuídas em 14 gêneros com destaque para as espécies *Annona muricata* L. (graviola) e *Annona squamosa* L. (fruta-do-conde, pinha, ata) (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

As anonáceas produzem acetogeninas, que são metabólitos secundários importantes na bioatividade de diversas espécies, são encontradas nas folhas, galhos, raízes e em sementes (BERMEJO et al. 2005; CASTILLO-SÁNCHEZ; JIMÉNEZ-OSORNIO; DELGADO-HERRERA, 2010). Esses metabólitos agem como inibidoras do transporte de elétrons mitocondrial, afetando a ação do NADH-ubiquinona oxireductase (ÁLVARES COLOM et al., 2007).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi a produção de extratos orgânicos de semente de *A. squamosa*, produção do microencapsulado de *A. squamosa*, caracterização química do extrato hexânico e do microencapsulado de *A. squamosa* e avaliação da toxicidade letal e subletal (efeito ovicida, efeito repelente, taxa instantânea de crescimento populacional e efeito residual) do extrato e do microencapsulado ao ácaro rajdo, *T. urticae*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae)

Segundo Krantz e Walter (2009), os ácaros são Arthropoda, classificados como Chelicerata, da classe Arachnida e subclasse Acari. Essa subclasse é dividida em duas superordens conhecidas como Parasitiformes e Acariformes, compostas por seis ordens, com aproximadamente 400 famílias. Parasitiformes é composta pelas ordens Opilioacarida, Holothyrida, Ixodida e Mesostigmata; e Acariformes, pelas ordens Trombidiformes e Sarcoptiformes.

A família Tetranychidae está inserida na ordem Trombidiformes, subordem Prostigmata, e compreende uma grande variedade de ácaros estritamente fitófagos, os quais se alimentam através da inserção dos estiletes nos tecidos das folhas, preferencialmente na face abaxial, sugando o conteúdo celular extravasado (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Os tetraniquídeos são conhecidos por tecerem teias sobre as folhas nas quais se alimentam. As teias os protegem de alguns predadores, pois dificultam a movimentação destes entre os fios da teia. Também impedem o estabelecimento de outra espécie no mesmo local e protegem a colônia contra as gotículas das chuvas. Além de facilitar a dispersão dos ácaros, através do processo conhecido como “balonismo”, no qual ocorre formação de teia em grande quantidade na parte superior da planta e acúmulo dos ácaros, que são dispersos pelo vento, ocorrendo quando as plantas estão altamente infestadas e os recursos alimentares tornam-se escassos (MORAES; FLECHTMANN, 2008; CLOTUCHE et al., 2011).

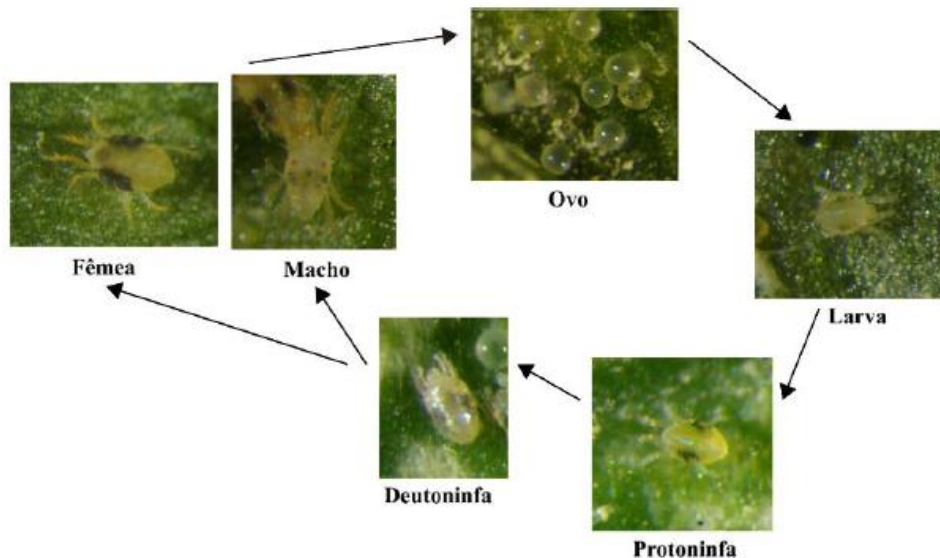
A dispersão dos tetraniquídeos também pode ser realizada de forma ativa, por caminhamento, ou de forma passiva, como por exemplo, por transporte de plantas ou partes vegetais, ferramentas ou por pessoas (ZHANG, 2003).

Dentre as espécies da família Tetranychidae, o *Tetranychus urticae* (Koch, 1836), ácaro rajado, é considerado uma das mais importantes pragas agrícolas, por ser uma espécie cosmopolita e polífaga, podendo ocorrer em mais de 150 famílias de plantas de importância econômica (ZHANG, 2003; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O ácaro rajado passa por cinco estágios de desenvolvimento: ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto (Fig.1), com duração que varia conforme a fase e a temperatura. Após a eclosão, a larva possui três pares de pernas, com tamanho próximo ao do ovo, podendo ser observados dois ocelos avermelhados na região dorsal. A larva se desenvolve e muda para

protoninfa, já com quatro pares de pernas, e na sequência, deutoninfa e adulto, sendo que entre estes estágios, o ácaro permanece em estado quiescente (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Figura 1 - Estágios de desenvolvimento do ácaro rajado, *Tetranychus urticae*



Fonte: BARBOSA et al., 2017.

O período de ovo a adulto varia de dez a doze dias (25°C), sendo que temperaturas elevadas (30°C) e baixa umidade relativa (<60%) são favoráveis ao seu desenvolvimento, nessas condições o período pode ocorrer em sete dias (ZHANG, 2003; ESTEVES FILHO et al., 2010; MORO et al., 2012).

O desenvolvimento imaturo também pode ser influenciado pela espécie de planta utilizada como hospedeira, assim como pode ocorrer variação intraespecífica, em função dos diferentes genótipos utilizados nos cultivos comerciais (GRECO; PEREYRA; GUILLADE, 2006; MEENA et al., 2013).

Uma fêmea é capaz de ovipositar aproximadamente 10 ovos por dia, e até 100 ovos em duas semanas numa temperatura de 25°C. Os ovos apresentam coloração amarelada, formato esférico, normalmente são depositados nas teias ou diretamente nas folhas, próximos à nervura (ZHANG, 2003; FADINI et al., 2006; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O ácaro rajado é de coloração esverdeada, com um par de manchas laterais escuras, devido à presença da massa alimentar que permanece nos dois primeiros pares de cecos gástricos. Os machos possuem as pernas mais longas e medem, aproximadamente, 0,25 mm de comprimento, diferindo das fêmeas, que são maiores, medindo 0,46 mm de comprimento. Além do tamanho, o macho pode ser diferenciado da fêmea por apresentar o corpo notadamente

afilado na região posterior. (ZHANG, 2003; MORAES; FLECHTMANN, 2008; BERNARDI et al., 2010).

O seu nível de importância como praga está relacionado à alta capacidade de desenvolver resistência aos acaricidas (SATO et al., 2009; NICASTRO; SATO; SILVA, 2010; MONTEIRO et al., 2015). Algumas características favorecem o rápido desenvolvimento de resistência a vários acaricidas, como por exemplo, o alto potencial reprodutivo, a consanguinidade, a reprodução arrenótoca através de um sistema haplo-diploide, onde os ovos não fertilizados desenvolvem machos haploides, o que permite a seleção precoce de resistência, e o ciclo de vida curto, resultando em várias gerações por ano (DEVINE; BARBER; DENHOLM, 2001; AY; YORULMAZ, 2010; VAN LEEUWEN et al., 2010, 2013).

2.2 Injúrias e danos causados pelo ácaro rajado, *Tetranychus urticae*

De modo geral, o ataque de *T. urticae* em altas infestações pode causar descoloração de folhas, perda da capacidade fotossintética e queda prematura das folhas, eventualmente, ocasiona a morte de plantas. Além disso, o acúmulo de excrementos e teias pode afetar a aparência das plantas e seu valor comercial (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O ácaro rajado é praga-chave em diversas culturas de importância agrícola, dentre elas o morangueiro, tomateiro, roseira, videira, feijoeiro, mamoeiro, macieira, entre outras.

No morangueiro o ataque do ácaro rajado pode reduzir a produção de frutos, quando não controlado. O fruto, quando atacado, fica endurecido, seco e com coloração marrom e as folhas apresentam manchas difusas de coloração avermelhada, que progridem para necrose e queda de folhas. Em casos de alta infestação da praga, pode haver redução na produtividade, afetando a quantidade e a qualidade de frutos (MOURA, 2015).

No algodoeiro, o ácaro tem preferência pelas folhas mediana e basal, que quando atacadas apresentam manchas avermelhadas a partir das nervuras. Em seguida ocorre o aparecimento de áreas necrosadas e queda das folhas. A infestação inicial se dá em reboleiras e as plantas atacadas têm seu ciclo encurtado e a produção reduzida, produzindo maçãs pequenas e fibras de má qualidade. Quando o ataque ocorre em plantas logo após a germinação, o ácaro pode causar a perda total da cultura, pois inviabiliza seu crescimento, causando a morte das plantas (MORAES; FLECHTMANN, 2008; MIRANDA, 2010).

No tomateiro, geralmente a consequência do ataque do ácaro é uma injúria mecânica causada pela perfuração das células e consequente morte das mesmas. As folhas danificadas são prejudicadas pela perda de água e de clorofila levando-a a redução na intensidade de

fotossíntese. Ataques intensos em época seca resultam em secamento de folhas e queda prematura, deixando os frutos expostos ao sol, não adquirindo a cor avermelhada característica, o que deprecia o produto (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Na roseira, causa manchas cloróticas nas folhas, acarretando em queda, perda de qualidade, diminuição do crescimento das plantas e redução na produção de botões (ACOSTA et al., 2001). O ácaro pode depositar em média até 112 ovos, um número muito maior que aquele observado em outras ornamentais (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O ataque em videira ocorre geralmente em folhas mais jovens, produzindo áreas cloróticas na face abaxial das folhas, entre as nervuras principais, com necrose posterior, e na face adaxial surgem tons avermelhados. Altas infestações podem causar desfolhamento, e o ataque aos cachos causa bronzeamento das bagas (BOTTON, 2005; OLIVEIRA; MOREIRA, 2009).

2.3 Controle do ácaro rajado, *Tetranychus urticae*

A utilização de acaricidas químicos é a forma mais comum de controle de ácaros na agricultura. Os acaricidas utilizados para *T. urticae* são caracterizados por uma grande variedade de estruturas químicas e modos de ação, sendo encontrados compostos que são tóxicos para os ácaros fitófagos, incluindo, inibidores de transporte de elétron mitocondrial, compostos neurotóxicos, inibidores do crescimento, entre outros (DEKEYSER, 2005; ATTIA et al., 2013).

Os acaricidas podem ter efeitos letais e subletais sobre os ácaros. Alguns podem causar mortalidade imediata, podem também afetar o desenvolvimento geral, inibindo o movimento, reduzindo o forrageamento ou diminuindo a taxa de oviposição (STEINER; SPOHR; GOODWIN, 2011; ATTIA et al., 2013).

No entanto, *T. urticae* é capaz de desenvolver resistência aos compostos sintéticos. Além disso, a utilização desses compostos pode causar mortalidade de polinizadores, predadores e parasitoides (CARVALHO et al., 2009; AY; YORULMAZ, 2010; ESTEVES FILHO, 2012; ATTIA et al., 2013). Também, podem deixar resíduos, causando impacto ambiental, devido à sua bioacumulação e persistência no solo (ATTIA et al., 2013).

A utilização de cultivares resistentes para o controle de *T. urticae* pode ser de grande contribuição, pois é um método eficaz, visto que mantém as populações abaixo do nível de dano econômico. Esse tipo de controle possui efeito permanente sobre a população da praga, além de não afetar diretamente seus inimigos naturais (LARA, 1991).

A detecção de plantas resistentes aos ácaros pode ser observada em função do menor desenvolvimento populacional das espécies em campo (não-preferência) (SILVA et al., 2011), ou por efeito negativo no ciclo biológico da praga (antibiose) (DEGHAN et al., 2009; VALADÃO, 2012).

O controle biológico é um fenômeno natural que consiste no uso de inimigos naturais com o objetivo de diminuir a população de uma espécie-praga abaixo do seu nível de dano econômico. Esta tática de controle existe naturalmente, mas o homem pode de alguma forma favorecer a ação de inimigos naturais, para reduzir os níveis de organismos indesejáveis (MORAES, 2002; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Os ácaros predadores são os principais inimigos naturais de ácaros-praga em diversas culturas (MORAES, 2002; SATO et al., 2007). As principais famílias de ácaros que abrigam espécies predadores são: Anystidae, Ascidae, Bdellidae, Cheyletidae, Cunaxidae, Laelapidae, Macrochelidae, Phytoseiidae, Rhodacaridae e Stigmaeidae (MORAES, 2002; CARRILLO; MORAES; PEÑA, 2015). Entre estas, merecem destaque as famílias Laelapidae e Phytoseiidae, das quais certas espécies vêm sendo comercializadas como agentes de controle biológico no Brasil.

As espécies de Phytoseiidae mais comercializadas no mundo para o controle do ácaro rajado são: *Galendromus (Galendromus) occidentalis* (Nesbitt, 1951), *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans, 1930), *Phytoseiulus longipes* (Evans 1958), *P. macropilis* (Banks, 1905) e *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954). Essas duas últimas espécies têm sido utilizadas para o controle do ácaro rajado em diferentes culturas no Brasil, como por exemplo, algodão, soja, frutíferas, ornamentais e hortaliças (MONTEIRO, 2002; SATO et al., 2007; POLETTI; OMOTO, 2012; SOUZA-PIMENTEL et al., 2014).

Alguns insetos também são predadores de ácaros, e contribuem no controle biológico, estão inseridos principalmente nas ordens Diptera, Coleoptera e Thysanoptera (ROTT; PONSONBY 2000; BIDDINGER; WEBER; HULL, 2009; PAKYARI et al., 2009; GHADA; MOHAMED, 2013).

Vírus e fungos entomopatogênicos têm sido identificados em condições naturais. Os fungos são os mais frequentemente encontrados, contribuindo para o controle em diferentes culturas (TAMAI; ALVES; NEVES, 1999). Isolados de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin mostraram-se patogênicos a *T. urticae* (TAMAI; ALVES; NEVES, 1999; TAMAI et al., 2002; GATARAYIHA; LAING; MILLER, 2010; MORO et al., 2011).

Uma forma de controle que vem sendo amplamente abordada é a utilização de produtos derivados de partes de plantas, essa prática adotada desde a idade antiga, voltou a ser abordada no controle de pragas (VIEGAS JÚNIOR, 2003). Esses produtos podem causar diversos efeitos sobre ácaros e insetos, tais como repelência, inibição de oviposição e da alimentação, alterações no sistema hormonal, causando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases (ÇALMAŞUR; ASLAN; ŞAHIN, 2006; ATTIA et al., 2011; ROH; PARK; PARK, 2012; KHERADMAND et al., 2015; MACIEL et al., 2015).

Diversos produtos derivados de plantas têm ação acaricida comprovada sobre *T. urticae* e outros tetraniquídeos. Produtos formulados à base de nim, como o Azamax[®], Neemseto[®] e Natuneem[®], que são extraídos das sementes da planta *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), são utilizados no controle de diversas pragas agrícolas, interferindo principalmente como fagoinibidor e no desenvolvimento dos insetos/ácaros. A azadiractina é o principal composto com atividade inseticida do nim, pertencente ao grupo dos limonoides (SCHLESENER et al., 2013; SILVA et al., 2013).

Existem alguns estudos sobre o efeito inseticida/acaricida de produtos extraídos de plantas pertencentes às famílias Lamiaceae, Annonaceae, Meliaceae, Asteraceae neles há comprovação da eficácia dos extratos em seu poder de mortalidade sobre as pragas (ÇALMAŞUR; ASLAN; ŞAHIN, 2006; ATTIA et al., 2012; SCHLESENER et al., 2013; SILVA et al., 2013; MACIEL et al., 2015).

2.4 Família Annonaceae

A família Annonaceae tem distribuição predominantemente tropical (PINHEIRO et al., 2009). Na literatura, alguns autores mostram que existem distinções entre a quantidade de gêneros, com relatos de 130, até aproximadamente 200 gêneros, e cerca de 2.500 espécies descritas (SAUQUET et al., 2003).

No Brasil, apenas a pinha (*Annona squamosa* L.) e a graviola (*A. muricata* L.) são anonáceas populares na maioria dos Estados, como fonte de frutos comestíveis, aminoácidos e proteínas. A atemoia (híbrido *A. squamosa* x *A. cherimola*) introduzida a partir da segunda metade do século XX permanece desconhecida da maioria da população. No entanto, essa fruta possui características para atingir os melhores mercados nacionais de frutas frescas e ser também exportada. A cherimólia (*Annona cherimola*), pelas suas exigências em temperaturas mais baixas do que as demais anonáceas, somente tem condições de ser produzida nas áreas mais frias do Sudeste e Sul do Brasil (LEMOS, 2014).

Algumas espécies também despertam o interesse para a produção de biocompostos extraídos de várias partes das plantas por apresentar importância medicinal, alelopática ou inseticida, tais como: *A. glabra*, *A. crassiflora*, *A. muricata*, *A. squamosa*, *A. bullata*, *A. mucosa*, *Duguetia furfuracea* e *Xylopia cericea* (INOUE et al., 2009; GAJALAKSHMI et al., 2011).

2.4.1 *Annona squamosa*

A *Annona squamosa*, conhecida popularmente como ata, fruta-do-conde ou pinha, é nativa das Antilhas, onde era chamada de “anón” pelos espanhóis no século XVI. Chegou ao Brasil por meio do Conde de Miranda que plantou o primeiro exemplar da árvore na Bahia, em 1626, originando daí um de seus nomes vulgares, fruta-do-conde (BRITO et al., 2008b). É conhecida na língua inglesa com “sugar apple” ou “sweet sop”, “rinon” em espanhol e “ata” em francês (BRAGA SOBRINHO; MESQUITA; HAWERROTH, 2012).

Somente em meados do século XX, a pinha passou a ser explorada comercialmente. De acordo com dados do censo de 2012 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), os principais produtores de pinha no Brasil são: Bahia, Alagoas, Pernambuco, São Paulo e Ceará. A Bahia possui área total de mais de 3.500 ha cultivados e produção de 20,8 mil toneladas. São Paulo e Minas Gerais são Estados de outra região que não a Nordeste, que apresenta produção significativa de pinha (LEMOS, 2014).

A pinheira é considerada uma árvore baixa, com quatro a seis metros de altura e muito ramificada. As folhas são decíduas, de lâminas oblongo-elípticas, de ápice obtuso ou acuminado, medindo de 4,5 a 15,6 cm de comprimento por 2,1 a 6,2 cm de largura, sendo de coloração verde-brilhante na face superior e de cor verde azulada na face inferior (MANICA, 2003).

Esta espécie é hermafrodita, ou seja, apresenta as partes masculinas e femininas na mesma planta e na mesma flor. Com as flores que se originam dos pequenos ramos novos, sendo pendentes, solitárias ou em grupo de duas a quatro. O fruto é um sincarpo arredondado, ou baga composta, ovóide, esférico ou codiforme, tem de 5 a 13 cm de diâmetro e é formado por carpelos muito proeminentes na maioria dos cultivares, coberto externamente de saliências achatadas em forma de tubérculos regularmente expostos. Os carpelos estão separados por uma linha creme, alaranjada ou roxa, característica da cultivar. Quando o fruto está completamente maduro, normalmente, os carpelos ficam separados uns dos outros, sendo possível ver no seu interior a polpa branca (MANICA, 2003).

2.4.2 Princípio ativo das anonáceas

Na literatura, são relatadas 42 espécies de Annonaceae com potencial inseticida, distribuídas em 14 gêneros (*Annona*, *Artabotrys*, *Asimina*, *Cardiopetalum*, *Dennettia*, *Duguetia*, *Guatteria*, *Monodora*, *Mkilua*, *Oxandra*, *Polyathia*, *Rollinia*, *Unonopsis* e *Xylopia*) com destaque para as espécies *A. muricata* e *A. squamosa* que atualmente são as espécies mais utilizadas para estudos de potencial inseticida (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

Do ponto de vista fitoquímico, a família Annonaceae se destaca pelos variados tipos de metabólitos secundários. Dados quimiotaxonômicos caracterizam esta família pela presença de alcaloides, flavonoides e terpenoides. Além da presença das acetogeninas, principais constituintes bioativos encontrados em gêneros específicos de anonáceas, que são uma classe de compostos com ampla atividade biológica, tais como citotóxicas, imunossupressora, pesticida, antitumoral, antiparasitária, antimicrobiana e antioxidante (BERMEJO et al., 2005; SILVA et al., 2009; LIMA; PIMENTA; BOAVENTURA, 2010; MATSUMOTO et al., 2010; MIAO et al., 2016).

As acetogeninas são caracterizadas por apresentarem uma cadeia longa alifática com 32 a 34 átomos de carbono e um anel γ - lactônico terminal insaturado ou saturado. Ao longo da cadeia podem apresentar um número variável de anéis tetrahydrofuranos (THF) ou tetraidropiranos (THP), e grupos funcionais oxigenados (hidroxilas, cetonas ou epóxidos) (ALALI; LIU; McLAUGHLIN, 1999).

Em mais de 30 anos de estudo, o número de acetogeninas identificadas já passa de 500 (LIAW et al., 2010). Podem ser extraídas das cascas, ramos, folhas, sementes e frutos verdes de anonáceas, através de solventes orgânicos, como o etanol, metanol, hexano e diclorometano (MAIRESSE, 2005).

Com relação às propriedades inseticidas, são inibidoras do transporte de elétrons mitocondrial, afetando a ação do NADH-ubiquinona oxiredutase (ÁLVARES COLOM et al., 2007).

A annonina IV, annonina VIII, annonina XIV e annonina XVI foram isoladas das sementes de *A. squamosa*, através de métodos como ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono e espectrometria de massas (NONFON et al., 1990), além da esquamocina-O (1) e esquamocina-O (2), utilizando métodos semelhantes (ARAYA et al., 2002).

A asimicina, annonina e annonacina, são exemplos de acetogeninas promissoras na obtenção de substâncias protótipos com propriedades inseticidas naturais. A asimicina, isolada

da espécie *Asimina triloba* L., teve elevada atividade contra os besouros *Epilachna varivestis* Mulsant e *Acalymma vittatum* F. (Coleoptera: Coccinellidae e Crysomelidae), *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera: Aphididae), larvas de *Aedes aegypti* L. e *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830 (Diptera: Culicidae e Calliphoridae) e o nematoide *Caenorhabditis elegans* Maupas, 1900 (Nematoda: Rhabditida) (RUPRECHT et al., 2007).

Das sementes da espécie *Annona cornifolia* A. St. Hil. já foram isoladas duas classes de acetogeninas: a esquamocina-L e esquamocina-M, que apresentaram atividade larvicida significativa sobre o microcrustáceo *Artemia salina* L., 1758 (Anostraca: Artemiidae) (SANTOS; PIMENTA; BOAVENTURA, 2007).

2.5 Controle de ácaros com produtos de origem botânica

Vários estudos sobre o efeito acaricida de extratos à base de plantas têm sido realizados, comprovando seu efeito tóxico letal e subletal. Os extratos de folhas de *A. squamosa*, *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) e *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) na concentração 11200 ppm, causaram mortalidade até no décimo dia após a pulverização, notando-se que a maior porcentagem foi encontrada para a *A. squamosa*, chegando a 90% de mortalidade do ácaro *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) (CARVALHO et al., 2008).

Os extratos hidroalcoólico de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae), *Coriandrum sativum* (Apiaceae) e *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) foram repelente ao *T. urticae* nas concentrações de 10 mg/mL a 100 mg/mL no período de avaliação de 2 e 24 horas (OLIVEIRA, 2013).

Nos estágios imaturo e adulto do ácaro-vermelho, *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae), após 24 horas da aplicação do extrato hexânico das sementes de *A. muricata* sobre folhas de tomateiro, observou-se 98% da mortalidade dos ácaros na concentração de 5,0% e após 48 horas da aplicação observou-se 100% de mortalidade (LIMA et al., 2014).

Os extratos de *Croton blanchetianus* (Baill) (Euphorbiaceae), *Myracrodruon urundeuva* (Allemão) (Anacardiaceae) *Ziziphus joazeiro* (Mart) (Rhamnaceae) nas concentrações de 15, 20 e 25% tiveram efeito repelente para o ácaro verde da mandioca *Mononychellus tanajoa* (Bondar, 1938) (Tetranychidae) (SIQUEIRA et al., 2014).

O extrato etanólico de semente de *A. muricata* apresentou CL₉₉ estimada em 12,07 mg/mL para o ácaro rajado, *T. urticae*, além de ter causado aproximadamente 90% de inviabilidade dos ovos nessa concentração (MACIEL et al., 2015).

Os óleos essenciais de laranja pera (*Citrus sinensis* Osbeck var. Pera) e laranja lima (*Citrus aurantium* L.) tiveram efeitos repelentes ao *T. urticae*, de até três horas, em condições de laboratório (CAMARA et al., 2015).

Já os óleos essenciais de *Cuminum cyminum* (Cumin) (Apiaceae), de *Syzygium aromaticum* (Clove) (Myrtaceae), e de *Mentha spicata* (Spearmint) (Lamiaceae), foram repelentes ao ácaro *T. urticae* nas concentrações 2,46; 2,69 e 4,52 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, respectivamente (KHERADMAND et al., 2015).

O extrato etanólico de *Chenopodium quinoa* Willd. (Chenopodiaceae) após 24 h nas concentrações testadas: 2, 3 e 4% proporcionaram efeito repelente com porcentagens de 96, 99 e 100%, respectivamente, dos ácaros *T. urticae*, permanecendo na parte não tratada do disco foliar (HARDER; TELLO; GILIOMEE, 2016).

O extrato etanólico das raízes da planta ornamental *Costus speciosus* Koen (Costaceae), causou $79,67 \pm 4,01\%$ de mortalidade nos ovos de *T. urticae*, além de atrasar significativamente o período de incubação (ISMAIL, 2017).

O extrato aquoso de raiz de *S. officinalis* L. e as nanopartículas de *S. officinalis* fabricadas com prata foram tóxicos para ovos de *T. urticae* com CL_{50} e CL_{90} de 3,1 e 13,1 g L^{-1} , respectivamente, para as nanopartículas. E CL_{50} e CL_{90} de 13,8 e 18,8 g L^{-1} , respectivamente, para o extrato (PAVELA et al., 2017).

Fernandes et al. (2017), ao estudarem o efeito da *Annona vepretorum* sobre *T. urticae*, obtiveram CL_{50} estimada do extrato metanólico de 10,96 mg mL^{-1} para o efeito tópico + residual e de 22,07 mg mL^{-1} para o efeito residual. A CL_{50} estimada para o extrato hexânico foi de 50,61 mg mL^{-1} . O extrato metanólico na CL_{50} interferiu na fecundidade e na longevidade das fêmeas. E para ambos os extratos, nos testes com múltipla escolha, os ácaros apresentaram preferência significativa pelo controle, quanto à alimentação e à oviposição.

Apesar das informações sobre grande número de plantas com atividade acaricida, ainda falta o adequado desenvolvimento de produtos que possam ser disponibilizados comercialmente (VASANTHARAJ, 2008).

2.6 Microencapsulação

Novas técnicas visando melhorar o desempenho de inseticidas/acaricidas estão sendo usadas por indústrias químicas apoiadas pelo conhecimento na tecnologia para encapsular as moléculas de ingrediente ativo. Tais aplicações, na agricultura podem aumentar a eficiência dos produtos químicos e naturais, diminuir seus problemas com fotodegradação, obter maior

segurança no manuseio, reduzindo os riscos de toxicidade para o homem e contaminação do meio ambiente, além de proporcionar a liberação de ingredientes ativos de forma controlada (MATTOSO; MEDEIROS; MARTIN NETO, 2005; PEREZ-DE-LUQUE; RUBIALES, 2009).

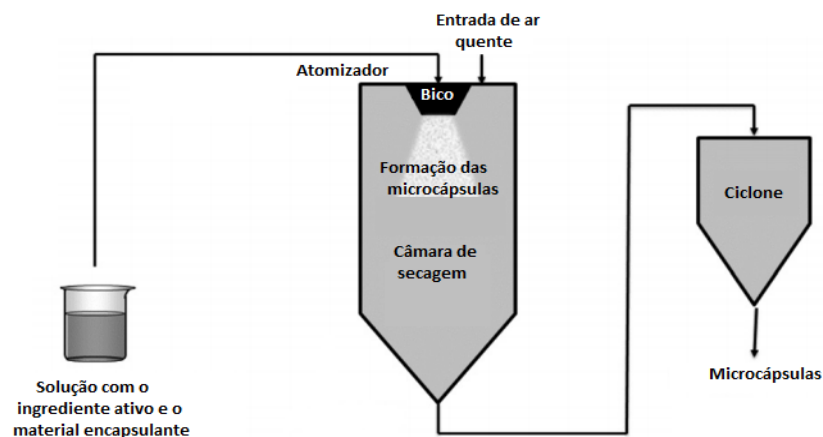
O conceito da microencapsulação tem como base a idealização do modelo celular, no qual o núcleo é envolvido por uma membrana semipermeável que o protege do meio externo e, ao mesmo tempo, controla a entrada e saída de substâncias na célula (RÉ, 2006). Assim, a microencapsulação compreende um processo em que ocorre a incorporação de substâncias de interesse, designado núcleo ou material ativo, em um sistema de revestimento, que é chamado de material de parede, agente encapsulante, ou membrana (GHARSALLAOUI et al., 2007; OBEIDAT, 2009; TIWARI, et al., 2010).

As substâncias que serão encapsuladas se apresentam, geralmente, no estado líquido ou sólido, podendo também ser um gás (FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

A microencapsulação realizada pelo método de *spray drying* é conhecida há muitos anos, e é utilizada em diversos produtos tais como: pigmentos naturais, probióticos, vitaminas, fármacos em geral, inseticidas, aditivos naturais, aromas e produtos alimentícios, como leite, café, sopas e chás (FAVARO-TRINDADE et al., 2010; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; JOYE; McCLEMENTS, 2014; SINGH; DIXIT, 2014; CHEN; ZHANG; ZHONG, 2015).

Na microencapsulação por *spray drying*, a substância a ser encapsulada é homogeneamente dispersa ou dissolvida em uma solução aquosa ou dispersão, contendo o agente encapsulante. Em seguida, o sistema é atomizado em uma corrente de ar quente que vai promover a evaporação do solvente, obtendo-se a rápida solidificação das gotículas que depois serão recolhidas no ciclone em forma de pó (Fig. 2) (NUNES, 2014).

Figura 2 - Representação esquemática da microencapsulação por *spray drying*



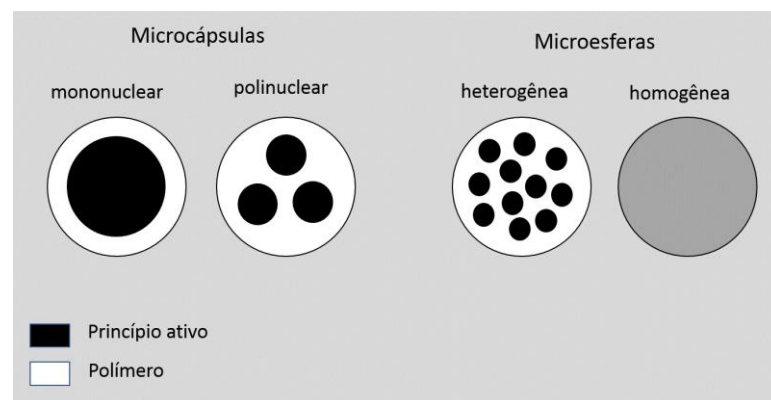
Fonte: adaptado de BURGAIN et al., 2011.

As variáveis deste processo envolvem a temperatura de entrada e saída de ar do sistema, o fluxo de ar ou fluido de arraste, a distribuição da temperatura e umidade, o tempo de permanência e temperatura da câmara. Estes parâmetros determinarão a eficiência do processo, juntamente, com as características do agente encapsulante (tamanho de moléculas, solubilidade) e características do material ativo (polaridade, pressão de vapor, tamanho de molécula) (RÉ, 1998; KISSEL et al., 2006).

Um dos parâmetros de maior importância é a temperatura do ar de entrada, sendo determinante na qualidade do produto obtido. O aumento na temperatura do material de entrada facilita o processo de secagem, pois normalmente reduz a tensão superficial e a viscosidade, facilitando a formação de gotículas (SOARES, 2002). O tempo de exposição do material ao calor é curto (1 a 2 segundos), e a temperatura do núcleo não ultrapassa 40°C, o que reduz a ocorrência de alterações indesejáveis em compostos termosensíveis (GHARSALLAOUI et al., 2007).

Em relação à estrutura física, as micropartículas podem ser classificadas como microcápsulas ou microesferas (Fig. 3). As microcápsulas consistem em micropartículas, onde o núcleo está envolvido por uma camada ou filme polimérico formando um sistema do tipo reservatório. Já nas microesferas, o polímero forma uma rede tridimensional onde o material a ser microencapsulado pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à matriz polimérica, formando sistemas de dissolução, dispersão ou sistemas porosos. Nestes sistemas, a área central consiste em um vazio resultante da expansão das partículas durante os estágios finais da secagem (JAFARI et al., 2008).

Figura 3 - Esquema ilustrativo dos tipos de micropartículas poliméricas



Fonte: Adaptado de SILVA et al., 2003.

Podem ainda, ser classificadas em cápsulas mono ou polinucleares e esferas hetero ou homogêneas. Nas mononucleares o princípio ativo está na forma de um único núcleo envolto pela matriz utilizada no processo, enquanto que, nas polinucleares, o ativo está subdividido em vários núcleos cercados pela matriz. Nas esferas heterogêneas o material de núcleo encontra-se suspenso de forma não homogênea na matriz enquanto que, nas esferas homogêneas, a substância ativa está dissolvida em seu estado molecular na matriz utilizada (Fig. 3) (SILVA et al., 2003).

As cápsulas podem ser classificadas por tamanho em três categorias: macro- ($> 5000 \mu\text{m}$), micro- ($0,2-5000 \mu\text{m}$) e nanocápsulas ($< 0,2 \mu\text{m}$) (AZEREDO, 2005).

2.7 Agentes encapsulantes

Os agentes encapsulantes são responsáveis pelo revestimento do material ativo, proporcionando proteção durante o armazenamento prolongado, evitando que ocorram alterações químicas e sensoriais no material encapsulado, além de conferir forma à microcápsula. Podem ser de origem natural, semissintética ou sintética, incluindo materiais poliméricos, hidrófilos, hidrófobos ou uma associação de ambos (GOUIN, 2004; AZEREDO, 2005; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Algumas características são necessárias para que o agente encapsulante seja considerado ideal, tais como apresentar baixa viscosidade em concentrações elevadas; ser fácil de manusear durante o processo de microencapsulação; apresentar baixa higroscopicidade para evitar aglomerações; ter elevada capacidade de incorporar o material a encapsular; proteger o material que será encapsulado de circunstâncias adversas, como oxigênio, luz e pH; não reagir com o composto a encapsular; apresentar propriedades desejadas de liberação do material a encapsular, ter sabor agradável quando administrado por via oral; não possuir aroma (SANTOS; MEIRELES, 2010).

Os agentes encapsulantes ainda devem possuir a capacidade de formar película coesa com o material do núcleo, proporcionando compatibilidade química e física que vai conferir algumas propriedades desejadas às microcápsulas, tais como flexibilidade, resistência, impermeabilidade e estabilidade na preparação. Na prática, muitas vezes, pelo fato de um mesmo composto não englobar todas essas propriedades, usam-se misturas (VENKATESEN; MANAVALAN; VALLIAPPAN, 2009).

Dentre os agentes encapsulantes mais estudados pelo método de *spray drying*, destacam-se os biopolímeros, provenientes de várias fontes como as gomas naturais (goma

arábica, alginatos, carragenas), carboidratos (amido, dextrinas e sacarose), as celulosas (carboximetilcelulose, acetilcelulose, nitrocelulose); os lipídeos (parafina, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras), proteínas (gelatina, derivados do leite, glúten e albumina) e materiais inorgânicos (sulfato de cálcio e silicatos) (GHARSALLAOUI et al., 2007; VEHRING, 2008; SERVAT et al., 2010).

2.7.1 Amido

Os grânulos de amido são formados por dois tipos de polímeros, a amilose e a amilopectina, ambos formados por unidade de *D*-glicose e que representam de 98 a 99% do seu peso seco, sendo que a relação dos dois polissacarídeos varia de acordo com a origem botânica do amido (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

O amido é um biopolímero, biocompatível, utilizado isolado ou em associação a outros polímeros, nos sistemas de liberação controlada. Sua principal propriedade é a gelatinização, capacidade de tornar-se viscoso em água com o aumento da temperatura (KRIEGER et al., 1997; WANG et al., 2010; CHAN et al., 2011).

Amidos e ingredientes à base de amido (amidos modificados, maltodextrinas, β -ciclodextrinas) são amplamente utilizados na indústria de alimentos, com a funcionalidade de reter e proteger compostos voláteis (MADENE et al., 2006). O amido tem sido amplamente estudado como potencial agente encapsulante, devido ao seu preço relativamente baixo e sua fácil aquisição (SPADA, 2011). Além disso, é uma matéria-prima abundante, renovável, biodegradável e não tóxica que pode ser extraído com elevada pureza por meio de processos industriais relativamente simples e ser facilmente convertido em várias substâncias por processos químicos e bioquímicos. Esses fatores, somados, determinam o imenso potencial agrícola e industrial do amido (LEONEL et al., 2011).

2.7.2 Maltodextrina

Maltodextrina, $[(C_6 H_{12} O_5)_n H_2O]$, é um carboidrato formado por hidrólise parcial, através da ação de ácidos ou enzimas e está disponível em diferentes níveis de dextrose equivalente, indicando o nível de hidrólise do polímero de amido. Apresenta elevada solubilidade em água, baixa viscosidade e produz soluções incolores (GIBBS et al., 1999; GHARSALLAOUI et al., 2007).

A maltodextrina vem sendo utilizada com sucesso na microencapsulação de compostos bioativos, atuando na sua proteção e melhorando sua estabilidade. Por exemplo, os compostos fenólicos presentes no extrato aquoso de erva mate possuem características de instabilidade frente à presença de luz, oxigênio e temperatura, sofrendo degradação por estes fatores. Assim, a tecnologia de microencapsulação, em que a maltodextrina é utilizada como agente encapsulante, aparece como alternativa de grande potencial para exercer efeito protetor nestes compostos (NEDOVIC et al., 2011). Desta forma, a maltodextrina apresenta habilidade de proteção dos materiais encapsulados, sendo este fato atribuído à sua capacidade de formar filme, às suas propriedades plásticas e ao seu poder redutor (ELNAGGAR et al., 2010; BARRETO et al., 2015).

2.7.3 Gelatina

A gelatina é uma proteína derivada da hidrólise parcial do colágeno, que é o principal constituinte de peles de animais, ossos, tendões e tecido conectivo. É composta por 18 aminoácidos diferentes que estão unidos por ligações peptídicas na formação da molécula de gelatina, cujo peso molecular médio varia entre 20.000 a 250.000, dependendo do grau de hidrólise do colágeno (VOGLER, 2011).

É uma proteína solúvel em água relativamente barata, que tem sido selecionada para a construção de partículas de biopolímeros. É uma ótima opção para produção de microesferas devido às suas boas características de formação de películas, boas propriedades plastificantes e de aderência. Ela é o produto da dissociação térmica ou química das cadeias polipeptídicas do colágeno (ZUANON, 2012; JOYE; McCLEMENTS, 2014).

2.7.4 Dióxido de silício coloidal

O dióxido de silício coloidal de nome comercial Aerosil® é uma sílica pirogênica com elevada pureza, amorfa e de finíssima granulometria, com caráter hidrofílico, possui propriedade dessecante (KRYSTAFKIEWICZ; BINKOWSKI; JESIONOWSKI, 2002; FONTES; CHIAVEGATTO; ALVES, 2012).

É produzido por um processo contínuo de hidrólise de clorosilanos. Durante esse processo, o tetracloreto de silício (SiCl_4) é convertido a gás e depois reage espontaneamente com o vapor d'água formado em uma atmosfera contendo oxigênio e hidrogênio com perda considerável de calor. O único subproduto dessa reação é o ácido clorídrico (gasoso), que é

separado da sílica. Vários grupos podem ser ligados quimicamente à superfície da sílica como, por exemplo, compostos organosilícios para alteração das características superficiais (hidrofilicidade e hidrofobicidade) (CARVALHO; LIMA; SOARES, 2015).

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, O. et al. Ciclo biológico de *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval y *Tetranychus urticae* Koch en rosa, clavel y alstroemeria bajo siete ambientes. **Asocolflores**, v. 60, p. 25-39, 2001.
- ALALI, F. Q.; LIU, X. X.; McLAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins: recent progress. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 504-540, 1999.
- ÁLVARES COLOM, O. et al. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Pest Science**, v. 80, p. 63-67, 2007.
- APRD**. Arthropod Pesticide Resistance Database, 2018 Disponível em: <<http://www.pesticideresistance.org>> Acesso em: 09 de janeiro de 2018.
- ARAYA, H. et al. Squamocin-O (1) and squamocina-O (2), new adjacent bis tetrahydrofuran acetogenins from the seeds of *Annona squamosa*. **Phytochemistry**, v. 8, p. 999-1004, 2002.
- ATTIA, S. et al. Chemical composition and acaricidal properties of *Deverra scoparia* essential oil (Araliales: Apiaceae) and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 4, p. 1220-1228, 2011.
- ATTIA, S. et al. Acaricidal activities of *Santolina africana* and *Hertia cheirifolia* essential oils against the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). **Pest Management Science**, v.68, p. 1069-1076, 2012.
- ATTIA, S. et al. A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides. **Journal of Pest Science**, v. 86, p. 361-386, 2013.
- AY, R.; YORULMAZ, S. Inheritance and detoxification enzyme levels in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) strain selected with chlorpyrifos. **Journal of Pest Science**, v. 83, p. 85-93, 2010.
- AZEREDO, H. M.C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.
- BARBOSA, M. F. C. et al. **Controle biológico com ácaros predadores** e seu papel no manejo integrado de pragas. 1º Ed., PROMIP, Engenheiro Coelho/SP, 2017. 70 p.
- BARRETO, A. R. et al. Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de Probióticos. **Ciência e Natura**, v. 37. p. 164-174, 2015.
- BARRETO, C. F. *Aedes aegypti* - Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 1, n. 2, p. 62-73, 2005.
- BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, v. 22, p. 269-303, 2005.

BERNARDI, D. et al. **Bioecologia, monitoramento e controle do ácaro-rajado com o emprego da azadiractina e ácaros predadores na cultura do morangueiro**. Circular Técnica. Embrapa, Bento Gonçalves, RS, 2010. 8p.

BIDDINGER, D. J.; WEBER, D. C.; HULL, L. A. Coccinellidae as predators of mites: Stethorini in biological control. **Biological Control**, v. 51, p. 268-283, 2009.

BOTTON, M. et al. **Pragas da videira**. Sistema de produção de uva de mesa no norte do Paraná. Embrapa Uva e Vinho, 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/MesaNorteParana/pragas.htm>>. Acesso em: 12 abr. 2017.

BRAGA SOBRINHO, R.; MESQUITA, A. L. M.; HAWERROTH, F. J. **Manejo integrado de pragas na cultura da ata**. Circular técnica. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, 2012. 25p.

BRITO, C. H. et al. Avaliação de produtos alternativos e pesticidas no combate a Cochonilha-do-carmim na Paraíba. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, p. 1-5, 2008a.

BRITO, H. O. et al. Análise da composição fitoquímica do extrato etanólico das folhas da *Annona squamosa* (ATA). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 3, p. 180-184, 2008b

BURGAIN, J. et al. Encapsulation of probiotic living cells: from laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 467-483, 2011.

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

CAMARA, C. A. G. et al. Repellent activity of essential oils from two species of *Citrus* against *Tetranychus urticae* in the laboratory and greenhouse. **Crop Protection**, v. 74, p. 110-115, 2015.

CARRILLO, D.; MORAES, G. J. de; PEÑA, J. E. **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. Cham: Springer International, 2015. 328 p.

CARVALHO, N. B.; LIMA, A. S.; SOARES, C. M. F. Uso de sílicas modificadas para imobilização de lipases. **Química Nova**, v. 38, n. 3, p. 399-409, 2015.

CARVALHO, S. M. et al. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 597-606, 2009.

CARVALHO, T. M. B. et al. Avaliação de extratos vegetais no controle de *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) em laboratório. **Coffee Science**, v. 3, n. 2, p. 94-103, 2008.

- CASTILLO-SÁNCHEZ, L. H. C.; JIMÉNEZ-OSORNIO, J. J.; DELGADO-HERRERA, M. A. Secondary metabolites of the Annonaceae, Solanaceae and Meliaceae families used as biological control of insects. **Tropical and Subtropical Agroecosystema**, v. 12, n. 3, p. 445-462, 2010.
- CHAN, E. S. et al. Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium–alginate beads and the viability of encapsulated cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 225-232, 2011.
- CHEN, H.; ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of spray-dried zein–casein nanocapsules with co-encapsulated eugenol and thymol. **Journal of Food Engineering**, v. 144, p. 93–102, 2015.
- CLOTUCHE, G. et al. The formation of collective silk balls in the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. **PLOS ONE**, v. 6, n. 4, e18854, 2011.
- DEGHAN, M. S. et al. Fitness of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on different soybean cultivars: biology and fertility life-tables. **International Journal of Acarology**, v. 35, n. 4, p. 341-347, 2009.
- DEKEYSER, M. A. Acaricide mode of action. **Pest Management Science**, v. 61, p. 103-110, 2005.
- DEVINE, G. J.; BARBER, M.; DENHOLM, I. Incidence and inheritance of resistance to METI-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). **Pest Management Science**, v. 57, p. 443-448, 2001.
- ELNAGGAR, Y.S.R. et al. Maltodextrin: a novel excipient used in sugar-based orally disintegrating tablets and phase transition process. **American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech**, v. 11, p. 645-651, 2010.
- ESTEVEZ FILHO, A. B. et al. Biologia comparada e comportamento de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae) em Algodoeiro Bollgard™ e Isolinha não-Transgênica. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 3, p. 338-344, 2010.
- ESTEVEZ FILHO, A. B. **Toxicidade, efeito residual e repelência de acaricidas sintéticos e produtos naturais sobre *Tetranychus urticae* Koch e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) em algodoeiro**. 2012. 83f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2012.
- FADINI, M.A.M. et al. Manejo integrado das principais pragas do morangueiro. In: CARVALHO, S.P. de (Coord.). **Boletim do morango: cultivo convencional, segurança alimentar, cultivo orgânico**. Belo Horizonte: FAEMG, 2006. p. 81-95.
- FAVARO-TRINDADE, C. S. et al. The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 4, p. 336-340, 2010.
- FAVARO-TRINDADE, C. S. F.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Review: microencapsulation of food ingredients. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 2, p. 103-109, 2008.

- FERNANDES, M. H. A. et al. Bioactivity of the organic extracts of *Annona vepretorum* on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 9, p.707-714, 2017.
- FONTES, C. S.; CHIAVEGATTO, L. F.; ALVES, M. A. Avaliação dos efeitos de higroscopicidade do cloridrato de cisteína nas cápsulas duras. **Revista de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 4-13, 2012.
- GAJALAKSHMI, S. et al. Pharmacological activities of *Annona squamosa*: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 10, n. 2, p. 24-29, 2011.
- GATARAYIHA, M. C.; LAING, M. D.; MILLER, R. M. Effects of adjuvant and conidial concentration on the efficacy of *Beauveria bassiana* for the control of the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 50, p. 217-229, 2010.
- GHADA S. R.; MOHAMED, A. A. Biological characters of *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Diptera: Cecidomyiidae) when fed on eggs of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Egyptian Journal of Agricultural Research**, v. 91, n. 1, p. 119-124, 2013.
- GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.
- GIBBS, B. F. et al. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 50, p. 213–224, 1999.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 330-347, 2004.
- GRECO, N. M.; PEREYRA, P. C.; GUILLADE, A. Host-plant acceptance and performance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 130, n. 1, p. 32-36, 2006.
- HARDER, M. J.; TELLO, V. E.; GILIOME, J. H. The acaricidal effect of ethanolic extracts of *Chenopodium quinoa* Willd. On *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **African Entomology**, v. 24, n.1, p. 50-60, 2016.
- INOUE, M. H. et al. Aqueous extracts of *Xylopiya aromatica* and *Annona crassiflora* on marandu grass (*Brachiaria brizantha*) and soybean. **Scientia Agraria**, v. 10, n. 3, p. 245-250, 2009.
- ISMAIL, M. S. M. Extract of the Plant *Costus speciosus* as a New Acaricide for Control of the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **African Entomology**, v. 25, n. 1, p. 148-155, 2017.
- JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y. H.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. **Drying Technology**, v. 26, p. 816-835, 2008.

JOYE, I. J.; McCLEMENTS, D. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 417- 427, 2014.

KHERADMAND, K. et al. Toxicity and Repellency Effects of Three Plant Essential Oils Against Two-spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 17, p. 1223-1232, 2015.

KISSEL, T. et al. Microencapsulation techniques for parenteral depot systems and their application in the pharmaceutical industry. In: BENITA, S. **Microencapsulation: Methods and Industrial Applications**. 2° Ed. Boca Raton, CRC Press Taylor E Francis Group, 2006. 104 p.

KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. **A manual of acarology**. 3. ed. Lubbock: Texas Tech University Press, Lubbock, Texas. 2009. 807 p.

KRIEGER, K. M. et al. Thermal properties of corn starch extracted with diferente blending methods: micro blender and homogeneizer. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 553-555, 1997.

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

KRYSZTAFKIEWICZ, A.; BINKOWSKI, S.; JESIONOWSKI, T. Adsorption of dyes on a silica surface. **Applied Surface Science**, v. 199, p. 31-39, 2002.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo, Ícone, 2 Ed., p. 45-97, 1991.

LEMOS, E. E. P. **A produção de anonáceas no Brasil**. Palestra Anonáceas - V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação. Botucatu-SP, Embrapa Agroindústria Tropical, v. 36, p. 77-85, 2014.

LEONEL, M. et al. Extração e caracterização do amido de diferentes genótipos de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, volume especial, p. 599-605, 2011.

LIAN, C. C. et al. Historic perspectives on annonaceous acetogenins from the chemical bench to preclinical trials. **Planta Medica**, v. 76, p. 1390-1404, 2010.

LIMA, H. M. A. et al. Toxicidade do extrato orgânico de sementes de *Annona muricata* L. (Annonaceae) sobre *Tetranychus evansi* (Baker & Pritchard, 1960) (Acari: Tetranychidae) em tomateiro. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 12, n. 4, p. 201-205, 2014.

LIMA, L. A. R. S.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1129-1138, 2010.

LOURENÇÃO, A. L. et al. Resistência de Morangueiros a *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 2, p. 339-346, 2000.

MACIEL, A. G. S. et al. Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 48, p. 4370-4375, 2015.

MADENE, A. et al. Flavour encapsulation and controlled release – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 1–21, 2006.

MAIRESSE, L. A. S. **Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos**. 2005. 330 f. Tese (Doutorado em Produção vegetal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

MANICA, I. Taxionomia, morfologia e anatomia. In: MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, K. P.; OLIVEIRA, M. A. S.; CUNHA, M. M.; OLIVEIRA JUNIOR, M. E.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R. T. **Frutas anonáceas: ata ou pinha, atemoia, cherimólia e graviola. Tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 23-26.

MARCOMINI, A. M. **Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)**. 2009. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 2009.

MARSARO JÚNIOR, A. L. et al. Efeito de acaricidas sobre *Schizotetranychus hindustanicus* (Hirst) (Acari: Tetranychidae) e ácaros predadores em citros no estado de Roraima, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n.1, p. 75-83, 2012.

MATSUMOTO, R. S. et al. Allelopathic potential of leaf extract of *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 631-635, 2010.

MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S.; MARTIN NETO, L. A revolução nanotecnológica e o potencial para o agronegócio. **Revista de Política Agrícola**, v. 14, n. 4, p. 38-48, 2005.

MEENA; N. K. et al. Biology and seasonal abundance of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, on orchids and rose. **Phytoparasitica**, v. 41, p. 597-609, 2013.

MEYER, G. A.; KOVALESKI, A.; VALDEBENITO-SANHUEZA R. M. Seletividade de agrotóxicos usados na cultura da macieira a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 381-387, 2009.

MIAO, Y. et al. Metabolomics study on the toxicity of *Annona squamosa* by ultraperformance liquid-chromatography high-definition mass spectrometry coupled with pattern recognition approach and metabolic pathways analysis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 184, p. 87-195, 2016.

MIRANDA, J. E. **Manejo integrado de pragas do algodoeiro no cerrado brasileiros**. Circular técnica. Embrapa Algodão, Campina Grande, PB, 2010. 37p.

MONTEIRO, L. B. Criação de ácaros fitófagos e predadores: um caso de produção de *Neoseiulus californicus* por produtores de maçã. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.;

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitoidese predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 351-365.

MONTEIRO, V. B. et al. Monitoring *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) resistance to abamectin in vineyards in the Lower Middle São Francisco Valley. **Crop Protection**, v. 69, p. 90-96, 2015.

MORAES, G. J. Controle biológico de ácaros fitófagos com ácaros predadores. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: Parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 225-237.

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

MORO, L. B. et al. Potencial do uso de fungos entomopatogênicos no controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em mamoeiro: efeito de cultivares sobre a patogenicidade. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 2, p. 267-272, 2011.

MORO, L. B. et al. Parâmetros biológicos e tabela de vida de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) em cultivares de mamão. **Ciência Rural**, v. 42, n. 3, p. 487-493, 2012.

MOURA, A. P. **Manejo do Ácaro-rajado e de Tripes em Morangueiro no Distrito Federal**. Embrapa. Comunicado Técnico. Embrapa, Brasília, DF, 2015. 8p.

NEDOVIC, V. et al. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806-1815, 2011.

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

NONFON, M. et al. Four annonins from *Annona squamosa*. **Phytochemistry**. v. 29, p. 1951-1954, 1990.

NUNES, G. L. **Microencapsulação por spray drying do extrato crioconcentrado de erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill) empregando a maltodextrina como agente encapsulante**. 2014. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2014.

OBEIDAT, W. N. Recent patents review in microencapsulation of pharmaceuticals using de emulsion solvent removal methods. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 3, n. 3, p. 178-192, 2009.

OLIVEIRA, J. E. M.; MOREIRA, A. N. **Manejo integrado de pragas da videira**, 2009. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA-2010/41817/1/OPB2579.pdf>>. Acesso em: 12 de abril de 2017.

- OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (*spray drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 641-650, 2010.
- OLIVEIRA, J. M. **Potencial de extratos vegetais no controle de *Polyphagotarsonemus latus*, *Tetranychus urticae* e *Mizus persicae***. 2013. 57f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, MG, 2013.
- PAKYARI, H. et al. Temperature- dependent functional response of *Scolothrips longicornis* Priesner (Thysanoptera: Thripidae) preying on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 12, p. 23-26, 2009.
- PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as eco-friendly biopesticides? Challenges and constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, p. 1000-1007, 2016.
- PAVELA, R. et al. Saponaria officinalis-synthesized silver nanocrystals as effective biopesticides and oviposition inhibitors against *Tetranychus urticae* Koch. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 338-344, 2017.
- PEREZ-DE-LUQUE, A. D.; RUBIALES, D. Nanotechnology for parasitic plant control. **Pest Management Science**, v. 65, n. 5, p. 540-545, 2009.
- PINHEIRO, M. L. B. et al. Acanthoic acid and other constituents from the stem of *Annona amazonica* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20 n. 6, p. 1095-1102, 2009.
- POLETTI, M.; OMOTO, C. Susceptibility to deltamethrin in the predatory mites *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae) populations in protected ornamental crops in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 58, p. 385-393, 2012.
- RÉ, M. I. Formulating drug delivery systems by *spray drying*. **Drying Thecnology**, v. 24, n. 4, p. 433-446, 2006.
- RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, p. 1195-1236, 1998.
- ROH, H. S., PARK, K. C., PARK, C. G. Repellent effect of santalol from sandalwood oil against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 105, p. 379-385. 2012.
- ROTT, A. S.; PONSONBY, D. J. Improving the control of *Tetranychus urticae* on edible glasshouse crops using a specialist coccinellid (*Stethorus punctillum* Weise) and a generalista mite (*Amblyseius californicus* McGregor) as biocontrol agents. **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, p. 87-498, 2000.
- RUPRECHT, J. K. et al. **Asimicin, a new cytotoxic and pesticidal acetogenin from the pawpaw, *Asimicina triloba* (Annonaceae)**. In: CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. Produtos naturais no controle de insetos. 2. Ed. São Carlos: EdUFSCar, 2007. 150p.
- SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Carotenoids pigments encapsulation: Fundamentals, techniques and recent trends. **The Open Chemical Engineering Journal**, v. 4, p. 42-50, 2010.

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

SATO, M. E. et al. Management of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in strawberry fields with *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) and acaricides. **Experimental and Applied Acarology**, v. 42, n. 2, p. 107-120, 2007.

SATO, M. E. et al. Monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a abamectin e fenpyroximate em diversas culturas no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 217-223, 2009.

SAUQUET, H. et al. Phylogenetic analysis of Magnoliales and Myristicaceae based on multiple data sets: implications for character evolution. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 142, p. 125–186, 2003.

SCHLESENER, D. C. H. et al. Efeitos do nim sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e os predadores *Phytoseiulus macropilis* (Banks) e *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 59-66, 2013.

SERVAT, L. et al. Microencapsulação: uma Alternativa Promissora para Preservação de Produtos Naturais. **Revista Fitos**, v. 5, n. 2, p. 52-57, 2010.

SILVA, A. C. B. et al. Toxicity of neem oil to the cassava green mite *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). **Chilean journal of agricultural research**, v. 73, n. 3, p.315-319, 2013.

SILVA, C. et al. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 1, 2003.

SILVA, H. A. S. et al. Clones de seringueira com resistência a ácaros. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 383-388, 2011.

SILVA, M. S. et al. Alkaloids and other constituents from *Xylopija langsdorffiana* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1566-1570, 2009.

SINGH, S.; DIXIT, D. A review on spray drying: emerging technology in food industry. **International Journal of Applied Engineering and Technology**, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2014.

SIQUEIRA F. F. S. et al. Atividade acaricida de extratos aquosos de plantas de caatinga sobre o ácaro verde da mandioca. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 4, p. 109-116, 2014.

SOARES, L. A. L. **Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek – Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final.** 2002. 273f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2002.

SOUZA-PIMENTEL, G. C. et al. Biological control of *Tetranychus urticae* (Tetranychidae) on rosebushes using *Neoseiulus californicus* (Phytoseiidae) and agrochemical selectivity. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 40, p. 80-84, 2014.

SPADA, J. C. **Uso do amido de pinhão manso como agente encapsulante**. 2011. 165f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2011.

STEINER, M. Y.; SPOHR, L. J.; GOODWIN, S. Impact of two formulations of the acaricide bifenthrin on the spider mite predator *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae). **Australian Journal of Entomology**, v. 50, p. 99-105, 2011.

TAMAI, M. A. et al. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 3, p. 77-84, 2002.

TAMAI, M. A.; ALVES, S. B.; NEVES, P. J. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. ao ácaro *Tetranychus urticae* Koch. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 2, p. 285-288, 1999.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch structure and digestibility enzyme substrate relationship. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 2, p. 186-195, 2004.

TIWARI, S. et al. Microencapsulation techniques and its application: a review. **The Pharma Research**, v. 3, n. 12, 2010.

VALADÃO, G. S. et al. Resistência de cultivares de videira ao ácaro-rajado *Tetranychus urticae* na região de Jales, estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1051-1058, 2012.

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

VAN LEEUWEN, T. et al. Spider mite control and resistance management: does a genome help? **Pest Management Science**, v. 69, p. 156-159, 2013.

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

VEHRING, R. Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 5, p. 999- 1022, 2008.

VENKATESAN, P.; MANAVALAN, R.; VALLIAPPAN, K. Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 1, n. 4, p. 26-35, 2009.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VOGLER INGREDIENTES LTDA. A Gelatina e seus benefícios para a saúde humana. **Food ingredients Brasil**, n. 18, 2011.

WANG, Q. et al. Alginate/starch blend fibers and their properties for drug controlled release. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 842-847, 2010.

ZHANG, Z. Q. **Mites in greenhouse**: identification, biology and control. Cambridge: CABI, 2003. 244 p.

ZUANON, L. A. C. **Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) em matrizes de gelatina, goma arábica e colágeno hidrolisado**. 2012. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, SP, 2012.

3 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DO MICROENCAPSULADO DO EXTRATO DA SEMENTE DE *Annona squamosa* L. (ANNONACEAE) E TOXICIDADE LETAL A *Tetranychus urticae* (KOCH, 1836) (ACARI: TETRANYCHIDAE)

RESUMO

Acaricidas químicos, em geral, são os mais utilizados no controle do ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (KOCH, 1836), praga de grande importância para frutíferas, hortaliças e plantas ornamentais. No entanto, o uso desses produtos pode ser ineficiente. Desta forma, a utilização de acaricidas botânicos é uma alternativa e a formulação desses produtos os torna mais estável e padronizados, com tempo de ação em campo prolongado, reduzindo as concentrações aplicadas e mantendo baixa toxicidade ao homem e aos organismos não-alvo. Assim, o objetivo do trabalho foi o preparo de extratos de sementes de *Annona squamosa* L. (Annonaceae), a avaliação da toxicidade letal dos extratos a *T. urticae*, a caracterização química do extrato hexânico, o preparo e a caracterização do microencapsulado de *A. squamosa* e a avaliação da toxicidade letal do microencapsulado a *T. urticae*. Para tanto, o extrato hexânico e o etanólico da semente de *A. squamosa* foram preparados através de extração à frio. Em seguida, ambos foram pulverizados sobre discos de folhas de feijão-de-porco, *Canavalia ensiformis* L. DC) (Fabaceae) em diferentes concentrações, utilizando-se torre de Potter para avaliar a toxicidade letal a *T. urticae*. Foram transferidas dez fêmeas para cada disco, disposto em placas de Petri e após 72 horas foi avaliada a sua mortalidade. As concentrações letais foram estimadas através da análise de Probit. A caracterização química do extrato hexânico foi realizada através da partição do extrato e cromatografia líquida de alta eficiência das frações clorofórmica e hidrometanólica. A preparação do microencapsulado foi realizada com o extrato hexânico, utilizando o aparelho de modelo BUCHI Mini Spray Dryer B-290, os polímeros utilizados foram: amido, maltodextrina, gelatina e aerossil. Em seguida, foi feita a caracterização do microencapsulado pela análise de tamanho de partícula, microscopia eletrônica de varredura e estudos termogravimétricos. A toxicidade letal do microencapsulado a *T. urticae* também foi avaliada através da análise de Probit. O extrato hexânico apresentou maior toxicidade ao *T. urticae*, com CL_{50} e CL_{99} estimadas em 1,41 e 26,05 g/L, respectivamente. Para o extrato etanólico, as CL_{50} e CL_{99} estimadas foram 2,08 e 53,27 g/L, respectivamente. As frações mais eficientes na mortalidade de *T. urticae* foram a clorofórmica e a hidrometanólica e os testes na cromatografia líquida de alta eficiência mostraram a provável presença de acetogeninas nessas frações. O microencapsulado apresentou micropartículas lisas, sem rachaduras e com pouca variação de tamanho ao longo da amostra, com índice de polidispersidade de 5,872 e os estudos termogravimétricos revelaram cinco processos de decomposição. O microencapsulado de *A. squamosa* teve CL_{50} e CL_{99} estimadas em 5,37 e 45,26 g/L, respectivamente. Conclui-se que extrato hexânico de *A. squamosa* e o microencapsulado de *A. squamosa* foram eficientes na mortalidade de *T. urticae*. Além da eficiência na mortalidade, este último possui também a vantagem de diminuir o efeito deletério ao meio ambiente, visto que o extrato se apresenta encapsulado com materiais que não são tóxicos.

Palavras-chave: Ácaro rajado. Pinha. Formulação.

ABSTRACT

Chemical acaricides, in general, are the most commonly used in the control of the two-spotter mite, *Tetranychus urticae* (KOCH, 1836), a pest of great importance for fruit, vegetables and ornamental plants. However, the use of these products may be inefficient. Thus, the use of botanical acaricides is an alternative and the formulation of these products makes them more stable and standardized, with prolonged field action time, reducing applied concentrations and maintaining low toxicity to humans and non-target organisms. The objective of the work was to prepare extracts of seeds of *Annona squamosa* L. (Annonaceae), the evaluation of the lethal toxicity of the extracts to *T. urticae*, the chemical characterization of the hexanic extract, the preparation and the characterization of the microencapsulated of *A. squamosa* and the evaluation of the lethal toxicity of microencapsulated to *T. urticae*. For this, the hexanic and ethanolic extract of seeds the *A. squamosa* were prepared by cold extraction. Afterwards, both were pulverized on discs of jack bean leaf, *Canavalia ensiformis* L. (DC) (Fabaceae) in different concentrations, using Potter's Tower to evaluate the lethal toxicity to *T. urticae*. Ten females were transferred to each disc, placed in Petri dishes and after 72 hours their mortality was evaluated. The lethal concentrations were estimated through Probit Analysis. The chemical characterization of the hexanic extract was carried out through the partitioning of the extract and high performance liquid chromatography of the chloroform and hydromethanolic fractions. The preparation of the microencapsulated was carried out with the hexanic extract, using the model BUCHI Mini Spray Dryer B-290, the polymers used were: starch, maltodextrin, gelatin and aerosil. Next, the characterization of the microencapsulated was performed through particle size analysis, scanning electron microscopy and thermogravimetric studies. The lethal toxicity of the microencapsulated to *T. urticae* mite was also evaluated through Probit Analysis. The hexanic extract presented higher toxicity to *T. urticae*, with LC₅₀ and LC₉₉ estimated at 1.41 and 26.05 g/L, respectively. For the ethanolic extract, the estimated LC₅₀ and LC₉₉ were 2.08 and 53.27 g/L, respectively. The most efficient fractions in mortality of *T. urticae* were chloroform and hydromethanolic, and the tests in high performance liquid chromatography showed the probable presence of acetogenins in these fractions. The microencapsulated showed smooth, non-cracking microparticles with little variation in size throughout the sample, with a polydispersity index of 5.872 and thermogravimetric studies revealed four decomposition processes. The microencapsulated of *A. squamosa* had LC₅₀ and LC₉₉ estimated at 5.37 and 45.26 g/L, respectively. It is concluded that hexanic extract of *A. squamosa* and microencapsulated of *A. squamosa* were efficient in the mortality of *T. urticae*. Besides the efficiency in mortality, the latter also has the advantage of reducing the deleterious effect to the environment, since the extract is encapsulated with non-toxic materials.

Key works: Two-spotter mite. Sugar apple. Formulation.

3.1 Introdução

O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), é uma das pragas mais importantes ao nível mundial, provocando perdas consideráveis em cultivos no campo e em casa de vegetação. Atacando frutíferas, hortaliças e plantas ornamentais (VAN LEEUWEN et al., 2007; MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Entre os métodos de controle indicados para essa praga, o controle químico ainda é o mais utilizado, no entanto, o uso intensivo de acaricidas químicos tem selecionado populações de ácaros resistentes (NICASTRO; SATO; SILVA, 2010), causando ressurgência de pragas, devido à mortalidade dos inimigos naturais. Além dos riscos de contaminação ao meio ambiente e ao homem (MEYER; KOVALESKI; VALDEBENITO-SANHUEZA, 2009; MARSARO JÚNIOR et al., 2012).

Os danos provocados por pragas aliados aos efeitos maléficos do controle químico podem ser atenuados ou eliminados com a utilização de produtos botânicos, que possuem degradação mais rápida, o que pode reduzir o impacto aos inimigos naturais, ao homem e ao ambiente (BRITO et al., 2008). Além disso, por serem produtos naturais provenientes de recursos renováveis e compostos de uma mistura de vários ingredientes bioativos, agindo sinergicamente, podem prevenir a seleção de populações resistentes (BARRETO, 2005).

Observa-se que a rápida degradação dos produtos botânicos, causada devido a fotodegradação e a temperatura, também pode ser considerada desvantagem, pois a curta duração de persistência do efeito significa que sua aplicação deve ser repetida, o que aumenta os custos para o produtor (PAVELA; BENELLI, 2016). Uma alternativa para amenizar essa rápida degradação é o preparo de formulações, que venham a apresentar características de estabilidade e liberação lenta, como por exemplo, formulações microencapsuladas.

A aplicação da nanotecnologia ou microtecnologia no setor de produtos agropecuários tem a finalidade de desenvolver produtos estáveis e padronizados, com tempo de ação em campo prolongado e mantendo sua baixa toxicidade ao homem e aos organismos não-alvo, reduzindo dessa forma as concentrações aplicadas (MATTOSO; MEDEIROS; MARTIN NETO, 2005; MARCOMINI, 2009).

O processo tecnológico de microencapsulação é responsável pela produção de micropartículas que consiste em envolver, com um fino filme de uma matriz qualquer, pequenas gotículas de uma substância ativa, sendo esta chamada de núcleo (GHARSALLAOUI et al., 2007). A microencapsulação pode oferecer um sistema de liberação lenta e controlada de

produtos botânicos, como forma de diminuir a quantidade de ingrediente ativo aplicado no controle de pragas.

A pinha, ata ou fruta-do-conde, *Annona squamosa* L. (Annonaceae) se destaca entre uma diversidade de plantas com potencial inseticida/acaricida. Entre as substâncias encontradas nas anonáceas, as acetogeninas são consideradas as mais importantes por apresentarem bioatividade contra diversas espécies de pragas. Agem como inibidoras do transporte de elétrons mitocondrial, afetando a ação do NADH-ubiquinona oxireductase. São encontradas nas cascas de galhos, raízes e, principalmente, em sementes. Além das acetogeninas também podem estar presentes alcaloides, compostos fenólicos, óleos essenciais, flavonoides e terpenos (BERMEJO et al., 2005; ÁLVARES COLOM et al., 2007; CASTILLO-SÁNCHEZ; JIMÉNEZ-OSORNIO; DELGADO-HERRERA, 2010; KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo a produção dos extratos orgânicos de sementes de *A. squamosa* e avaliação da toxicidade letal dos extratos a *T. urticae*, a caracterização química do extrato hexânico, a produção e caracterização do microencapsulado de *A. squamosa* e a toxicidade do microencapsulado a *T. urticae*.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Obtenção e criação do ácaro *Tetranychus urticae*

Os ácaros foram provenientes de criação mantida no Laboratório de Entomologia: Controle Alternativo de Pragas no CECA/UFAL, em Rio Largo, AL a temperatura ambiente de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas.

Esses ácaros foram mantidos em mudas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L. DC) (Fabaceae) cultivadas em vasos de polietileno com capacidade de 5 L, contendo uma mistura de solo e esterco bovino 10-10, em casa de vegetação. Para a manutenção da criação, constantemente vasos contendo mudas novas foram colocados próximos das mudas contendo a criação do ácaro.

3.2.2 Preparo dos extratos orgânicos da semente de *Annona squamosa*

Sementes de *A. squamosa* foram retiradas de frutos coletados em área experimental do setor de fruticultura do CECA/UFAL. As sementes (7,0 kg) foram lavadas para retirada dos

resíduos, colocadas em sacos de papel Kraft e levadas para secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 50°C por 72 horas. Em seguida, foram trituradas em triturador Trapp para a obtenção do pó, que foi devidamente armazenado em recipientes de vidro hermeticamente fechados até o preparo dos extratos.

Os extratos foram preparados no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais da UFAL. O pó das sementes, foi submetido à extração à frio em percolador de aço inoxidável, primeiramente utilizando como solvente extrator três litros de hexano, ficando 2 h em maceração, em seguida, o macerado foi retirado e concentrado em rotaevaporador a 50°C, à pressão reduzida.

Depois sobre a torta resultante após a filtração, foi acrescentado o etanol como solvente extrator na quantidade de 3,3 L ficando em maceração por 72 horas. O macerado foi retirado e concentrado em rotaevaporador e o solvente readicionado ao percolador. Este processo se repetiu três vezes.

Obteve-se rendimento de 1,00 kg de resíduos concentrados para o extrato hexânico e 0,70 kg para o extrato etanólico. Posteriormente os extratos foram colocados em frasco de vidro, vedados, etiquetados e armazenados em temperatura ambiente.

3.2.3 Toxicidade letal dos extratos orgânicos a *Tetranychus urticae*

Foram realizados pré-testes com os extratos hexânico e etanólico em diferentes concentrações para determinar valores próximos do limite superior, com aproximadamente 100% de mortalidade, e próximos do limite inferior, com mortalidade quase nula. Em seguida, as concentrações testadas foram obtidas pela fórmula de BLISS (1934): $q = (a_n \div a_1)^{1/n+1}$ onde: q = razão da progressão geométrica (pg); n = número de concentrações a extrapolar; a_n e a_1 = limites superior e inferior, respectivamente, da pg. As concentrações testadas para o extrato etanólico foram: 0,30; 0,57; 1,25; 2,59; 5,57 e 11,52 g/L, e para o extrato hexânico formam: 0,46; 0,84; 1,86; 3,25; 6,14 e 12,10 g/L. As soluções dos extratos foram solubilizadas em água destilada acrescentando-se o emulsificante Tween 80 (0,05%). O controle utilizado foi uma solução de água destilada e Tween 80 (0,05%).

Foram confeccionados discos de 5,0 cm de diâmetro com folhas de feijão-de-porco, os quais foram pulverizados com os extratos em diferentes concentrações, utilizando-se torre de Potter (Burkard, Rickmansworth, UK). A aplicação foi realizada a uma pressão de 5 psi/pol² utilizando-se um volume de calda de 1,6 mL, correspondendo a um depósito de $2,0 \pm 0,27$ mg/cm². Esta quantidade aplicada está de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS

(International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/ West Palearctic Regional Section) e representa o que ocorrerá no campo (REIS et al., 1998).

Em seguida, os discos foram colocados para secar sobre papel toalha à temperatura ambiente durante uma hora e transferidos para placas de Petri (8,5 cm de diâmetro) contendo um alfinete colado com silicone no fundo da mesma e água destilada para evitar a fuga dos ácaros. No centro de cada disco foi feito um orifício para passagem do alfinete e fixação do disco foliar. Desta forma, os discos permaneceram sem tocar na parede da placa, deslocando-se apenas com o nível da água (REIS; ALVES 1997). Um total de 10 fêmeas do ácaro rajado foram retiradas aleatoriamente da colônia de manutenção e transferidas para cada disco (repetição), totalizando seis repetições por concentração.

A mortalidade dos ácaros foi avaliada com 72 horas após a pulverização, sendo considerados mortos quando não conseguiam se mover a uma distância equivalente ao comprimento de seu corpo (SATO et al., 2002). As concentrações letais (CL_s) foram estimadas através da análise de Probit, pelo programa estatístico SAS (SAS Institute, 2003). Para os testes seguintes foi utilizado apenas o extrato avaliado como mais eficiente, ou seja, com menor CL_s estimada para o *T. urticae*.

3.2.4 Caracterização química do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa*

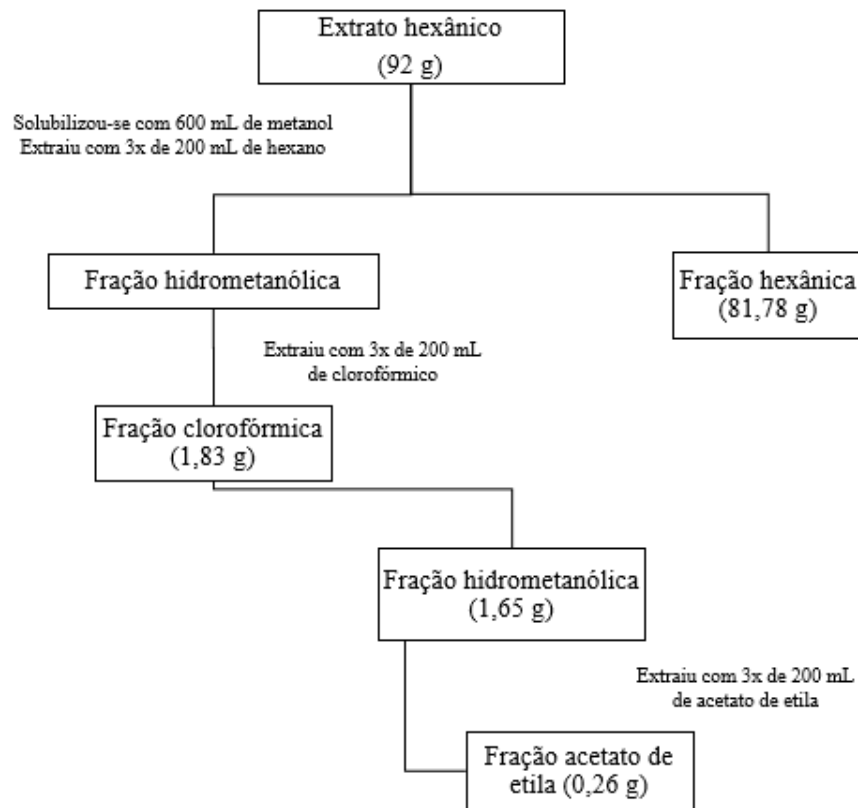
3.2.4.1 Partição líquido-líquido do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa*

A partição líquido-líquido foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais da UFAL. O extrato hexânico foi ressuspenso em metanol utilizando-se um funil de separação e solventes orgânicos de polaridades crescentes, hexano, clorofórmio e acetato de etila, como pode-se observar na Fig. 4.

Cada fração obtida da partição foi testada para avaliar o efeito na mortalidade do ácaro rajado, utilizando-se a CL_{99} estimada para o extrato hexânico de *A. squamosa*, de acordo com a metodologia de Reis et al. (1998). Foram utilizadas seis repetições por tratamentos.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, pelo Assistat 7.7 pt (SILVA; AZEVEDO, 2017).

Figura 4 - Esquema de partição líquido-líquido com diferentes solventes no extrato hexânico da semente de *Annona squamosa*



Fonte: Autora, 2018.

Foi avaliado o efeito das frações na mortalidade do ácaro rajado, utilizando-se a concentração referente a CL₉₉ estimada para o extrato hexânico bruto. Desta forma, a fração com maior percentual de mortalidade foi selecionada para realizar a análise em cromatografia líquida de alta eficiência.

3.2.4.2 Análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Farmacêuticas e Alimentícias da UFAL, em cromatógrafo líquido Shimadzu (Japão).

Para o teste em CLAE foram utilizadas as duas frações com maior atividade biológica ao ácaro rajado. As amostras foram dissolvidas em éter a fim de se obter uma concentração de 50 mg/mL. Em seguida, 2 µL da solução foram utilizadas para o teste cromatográfico. A separação ocorreu empregando um método isocrático, usando como fase móvel a mistura acetonitrila e água ultra-pura como solventes (ACN/H₂O 85:15 v/v). A fase móvel foi eluída

usando uma coluna C18 modelo Júpiter Phenomenex (250 x 4,6 mm; 5 μ m), à 35°C, com fluxo de 1,0 mL/min e detector de UV operando a 205 nm durante um período de 31 minutos, de acordo com metodologia adaptada de Wu (2003).

3.2.5 Microencapsulação do extrato da semente de *Annona squamosa*

A microencapsulação foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Controle de Medicamentos da UFAL utilizando o aparelho de modelo BUCHI Mini Spray Dryer B-290, a uma temperatura de entrada de 200°C, fluxo de ar de 80 m³/min e velocidade de rotação de 26 RPM. Foram testados os encapsulantes: amido, gelatina, maltodextrina e aerosil em diversas proporções e selecionada a mais adequada para a formação da micropartícula. A seleção do percentual de cada um foi baseada no teor de matéria-seca, que foi igual a 94,4 %, obtido através do método gravimétrico, por meio de balança eletrônica de umidade Shimadzu MOC-120H[®], com precisão de 1 mg e com secador de infravermelho. Para tanto, cerca de 1 mL do extrato hexânico foi seco sob temperatura de 120 ° C, até obter perda de umidade inferior a 0,01 (Tab.1).

A solução foi preparada em agitação constante, nas proporções do material excipiente indicadas abaixo, para cada 80 mL de água destilada (a 40 °C) e 85 mL de álcool etílico absoluto P.A (Tab. 1). O rendimento final do microencapsulado foi de 73,37%.

Tabela 1 - Porcentagem do material excipiente utilizado no preparo da formulação

Material	Porcentagem (%)
Extrato hexânico de pinha	50,00
Maltodextrina	24,50
Gelatina em pó sem sabor	9,50
Amido	9,50
Aerosil	6,49

Fonte: Autora, 2018.

3.2.6 Caracterização do microencapsulado de *Annona squamosa*

3.2.6.1 Análise de tamanho de partículas do microencapsulado

As distribuições granulométricas das micropartículas obtidos por atomização em *Spray Dryer* foram analisadas por difração a laser em aparelho Malvern Mastersizer 2000 (Malvern

Instruments, Inglaterra) no Instituto Tecnológico de Pernambuco (ITEP). Pequenas quantidades do microencapsulado foram dispersos em água com auxílio de ultrassom até atingirem o índice de obscuração requisitado pelo aparelho e analisadas na faixa de 0.020 – 2000 μm . O tamanho médio foi determinado considerando-se o diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume (Diâmetro de De Brouckere $D_{[4,3]}$). A polidispersidade foi dada pelo índice span o qual é calculado por $(D_{0.9} - D_{0.1}) / D_{0.5}$, onde $D_{0.9}$, $D_{0.5}$ e $D_{0.1}$ são respectivamente os diâmetros das partículas correspondentes a 90, 50 e 10% da distribuição amostral.

3.2.6.2 Caracterização morfológica do microencapsulado através do microscópio eletrônico de varredura (MEV)

O material foi analisado no Laboratório de Microscopia da Coordenação de Química do Instituto Federal de Alagoas.

Uma pequena quantidade do microencapsulado foi fixada com fita metálica adesiva de carbono de dupla face e montada sobre o *stubs* do microscópio com altura de 1,0 cm de altura e diâmetro de 1,0 cm. Este material foi transferido para um metalizador QUORUM Q150R ES para ser recoberto com uma camada de ouro. Foi aplicado uma corrente de 45 mA por 200 segundos. O material foi analisado em MEV modelo TESCAN VEGA3 com distância de trabalho de 15,97 mm e com aceleração de voltagem igual a 20 kV.

3.2.6.3 Estudos Termogravimétricos (TGA)

As curvas termogravimétricas do microencapsulado e dos agentes encapsulantes (amido, gelatina e maltodextrina) foram obtidas em aparelho Shimadzu modelo TGA-50H, no Laboratório de de Tecnologia de Controle de Medicamentos da UFAL, sob fluxo de ar sintético de 20 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, até uma temperatura final de 900 ° C, utilizando cadinho de alumina e massa da amostra igual a 5,0 \pm 0,5 mg. O aerossol não foi avaliado, pois é pouco denso, sendo inviável esse procedimento. Os dados termoanalíticos foram analisados utilizando o software TA-60WS Collection Monitor.

3.2.7 Toxicidade letal do microencapsulado a *Tetranychus urticae*

Foram realizados pré-testes com o microencapsulado em diferentes concentrações para determinar valores próximos do limite superior, com aproximadamente 100% de mortalidade,

e próximos do limite inferior, com mortalidade quase nula. Em seguida, as concentrações a serem testadas foram obtidas através da fórmula de BLISS (1934): $q = (a_n \div a_1)^{1/n+1}$ onde: q = razão da progressão geométrica (pg); n = número de concentrações a extrapolar; a_n e a_1 = limites superior e inferior, respectivamente, da pg. As concentrações testadas foram: 3,5; 5,1; 7,4; 10,8; 15,9 e 23,2 g/L. As soluções dos extratos foram solubilizadas em água destilada acrescentando-se o emulsificante Tween 80 (0,05%).

Os experimentos seguiram a mesma metodologia da toxicidade letal dos extratos e as concentrações letais (CL_s) foram estimadas através da análise de Probit pelo programa estatístico SAS (SAS Institute, 2003).

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Toxicidade letal dos extratos orgânicos da semente de *Annona squamosa* a *Tetranychus urticae*

O extrato hexânico proporcionou maior toxicidade ao *T. urticae*, em comparação ao extrato etanólico, visto que foi requerida uma menor quantidade do extrato para causar mortalidade aos ácaros, apresentando CL_{50} e CL_{99} estimadas em 1,41 e 26,05 g/L, respectivamente. E o extrato etanólico, teve as CL_{50} e CL_{99} estimadas em 2,08 e 53,27 g/L, respectivamente (Tab. 2).

Tabela 2 - Concentração letal (CL) (g/L) dos extratos orgânicos da semente de *Annona squamosa* sobre *Tetranychus urticae*

Tratamentos	n ^a	GL ^b	Inclinação ± EP ^c	CL ₅₀ (IC 95%)	RT ₅₀ ^d	CL ₉₉ (IC 95%)	RT ₉₉	χ ^{2e}	P
Extrato etanólico	360	4	1,65 ± 0,16	2,08 (1,69-2,58)	1,47	53,27 (30,48-118,30)	2,04	7,43	0,11
Extrato hexânico	360	4	1,83 ± 0,18	1,41 (1,14-1,70)	-	26,05 (16,39-50,82)	-	7,57	0,11

^aNúmero de ácaros utilizados em cada experimento.

^b Grau de liberdade do qui-quadrado

^c Erro Padrão

^d Razão de toxicidade entre os extratos = maior CL_{50} e CL_{99} /menor CL_{50} e CL_{99} dos demais

^e Qui-quadrado

Fonte: Autora, 2018.

A razão de toxicidade (RT) para o extrato etanólico foi de 1,47 na CL₅₀ e de 2,04 na CL₉₉, ou seja, a concentração do extrato etanólico estimada para causar 50% de mortalidade na população de *T. urticae* é 1,47 vezes maior se comparada à concentração do extrato hexânico e para causar 99% de mortalidade na população de *T. urticae* é 2,04 vezes maior.

Embora, diversos autores têm destacado uma relação direta entre a polaridade do solvente utilizado na extração e a atividade do extrato sobre pragas, observando que geralmente, solventes com menor polaridade ou apolares, como o hexânico, tem menor atividade inseticida/acaricida que aqueles com polaridade intermediária, como o etanólico (POTENZA et al., 2005; MACIEL et al., 2015; TRINDADE et al., 2018). No presente estudo, entretanto, observou-se que o extrato obtido com o hexano possibilitou maior atividade, sendo, portanto, mais eficiente em relação ao extrato etanólico, no que se refere ao efeito acaricida à *T. urticae*.

Também para o extrato de semente de *A. squamosa*, o extrato hexânico (apolar) teve maior efeito tóxico ao pulgão *Aphis gossypii* (Glover, 1887) (Hemiptera: Aphididae), com CL₉₉ estimada em 4,39%, em comparação ao extrato etanólico (maior polaridade) com CL₉₉ estimada em 5,47% (SANTOS, 2016). Evidenciando que nem sempre é possível selecionar um extrato com maior atividade em relação à determinada praga, levando em consideração apenas a polaridade dos solventes utilizados para sua extração. É provável que *A. squamosa* tenha alguma substância em sua composição com maior atividade, visto que, outros autores tiveram em seus estudos resultados mais eficientes para extratos preparados com solventes mais polares com outras espécies de Annonaceae, que não *A. squamosa*.

Como exemplo, Fernandes et al. (2017), ao estudarem o efeito acaricida de *Annona vepretorum* sobre o ácaro rajado, tiveram no efeito residual, para o extrato metanólico CL₅₀ de 22,07 mg mL⁻¹ e para o extrato hexânico CL₅₀ de 50,61 mg mL⁻¹, diferindo do presente trabalho, quando se observa que o extrato mais eficiente, ou seja, aquele que precisou de menor concentração para causar mortalidade nos ácaros, foi o de maior polaridade.

Outro estudo mostra que o extrato hexânico de semente de *A. muricata* foi mais eficiente que o extrato etanólico com CL₉₉ estimada em 31,87 mg/mL e 12,07 mg/mL, respectivamente, para o ácaro rajado, *T. urticae* (MACIEL et al., 2015).

3.3.2 Caracterização química do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa*

Ao testar as frações: acetato de etila, clorofórmica, hexânica e hidrometanólica na concentração equivalente à CL₉₉ do extrato hexânico bruto (26,05 g/L), observou-se que houve

diferença significativa entre os tratamentos a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey ($F = 32,34$; $p < 0,001$; $CV = 22,69$) (Tab. 3).

As frações que causaram maior percentual de mortalidade do ácaro *T. urticae* foram a clorofórmica e a hidrometanólica, com $86,66 \pm 3,33$ % e $75,00 \pm 7,64$ % de mortalidade (Tab. 3), indicando provavelmente maior quantidade de compostos com efeito acaricida. Desta forma, as análises de caracterização fitoquímica em CLAE seguiram com essas duas frações.

Tabela 3 - Toxicidade das frações do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa* a *Tetranychus urticae*

Frações	Mortalidade (Média \pm EP ^a)
Clorofórmica	$86,66 \pm 3,33$ a
Hidrometanólica	$75,00 \pm 7,64$ ab
Hexânica	$61,66 \pm 4,01$ b
Acetato de etila	$53,33 \pm 6,66$ b
Testemunha	$8,33 \pm 1,66$ c

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,001$).

^a Erro padrão

Fonte: Autora, 2018.

Na fração clorofórmica submetidas à CLAE o cromatograma obtido (Fig. 5) apresentou maior percentual de constituintes no tempo de retenção entre 5 e 11 minutos e entre 25 e 26 minutos com absorção no comprimento de onda de 205 nm.

Os picos com maior percentual de área estão no tempo de retenção de 5,84; 7,76; 10,72; 25,69 e 26,78 minutos, com área de 15,72; 8,17; 5,77; 4,87 e 6,55 %, respectivamente (Fig. 6 e Tab. 4).

Figura 5 - Cromatograma obtido por CLAE da fração clorofórmica do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa*

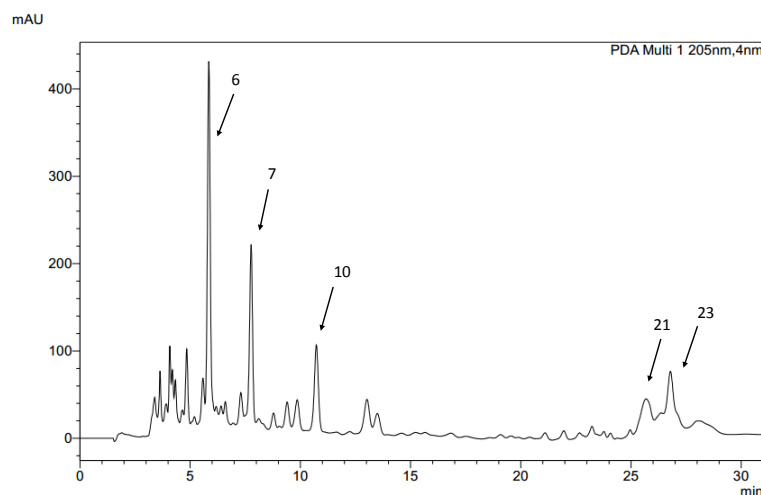


Figura 6 - Espectros de absorção dos constituintes referentes aos maiores picos (6, 7, 10, 21 e 23) da fração clorofórmica do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa*

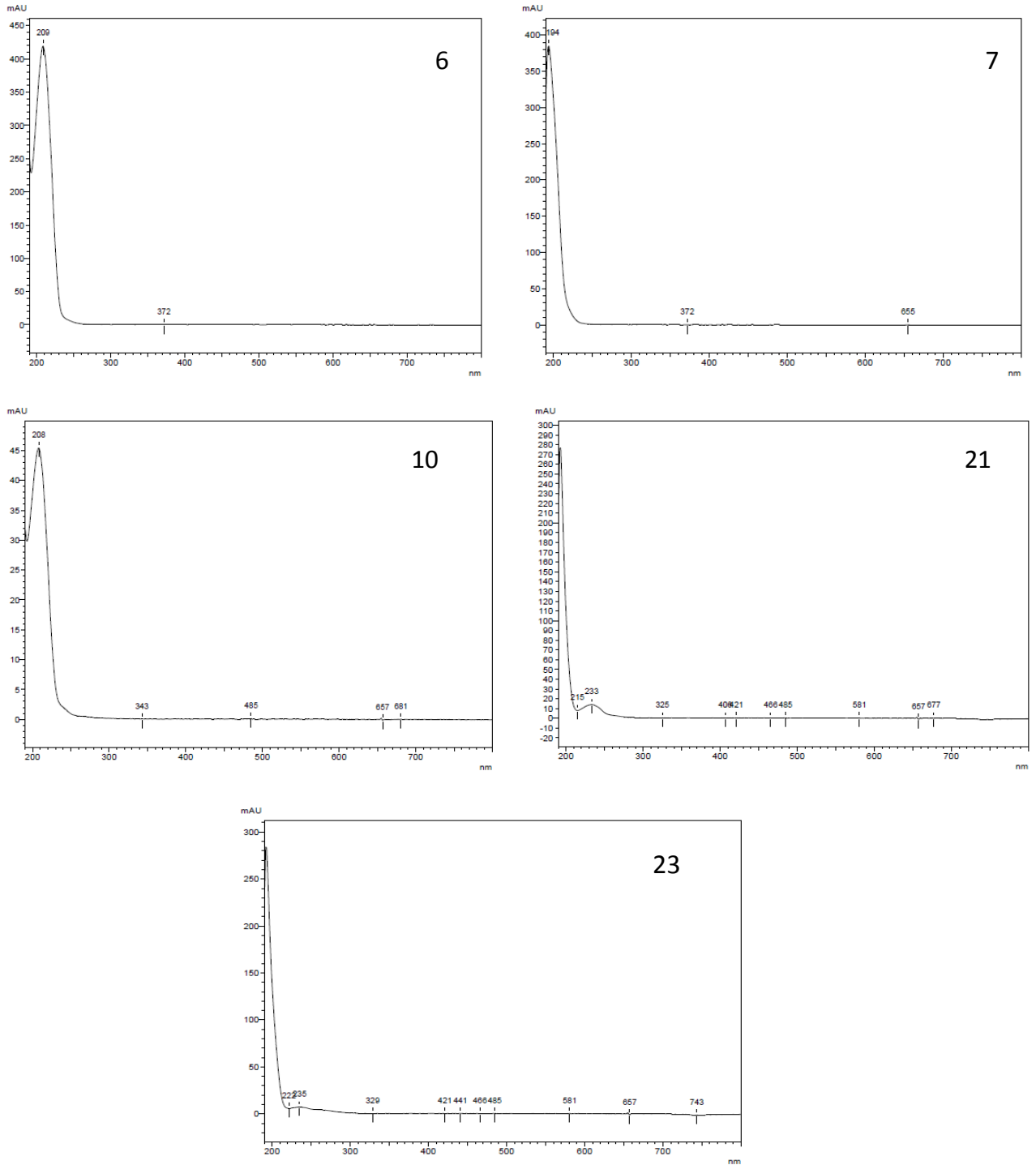


Tabela 4 - Principais picos obtidos por CLAE da fração clorofórmica do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa*

Pico	Tempo de retenção (min)	Área (%)	Comprimento de onda ($\lambda 1$)	Comprimento de onda ($\lambda 2$)
1	3,63	1,98	194	273
2	4,19	1,61	194	233(om)
3	4,33	1,91	231	275
4	4,84	3,03	194	-
5	5,58	2,71	209	-
6	5,84	15,72	209	-
7	7,76	8,17	194	-
8	9,40	2,29	208	-
9	9,85	2,72	194	-
10	10,72	5,77	208	-
11	13,02	3,29	209	-
12	13,49	2,00	209	-
13	16,83	0,96	208	-
14	21,09	0,46	194	240
15	21,95	0,51	194	241
16	22,66	0,49	194	236
17	23,23	0,91	194	235
18	23,76	0,35	194	235
19	24,06	0,22	194	238
20	24,96	0,42	194	236
21	25,69	4,87	194	233
22	26,36	1,86	194	233
23	26,78	6,55	194	235
24	28,03	3,37	194	235

Fonte: Autora, 2018.

Na fração hidrometanólica submetidas à CLAE o cromatograma obtido (Fig. 7) apresentou maior percentual de constituintes no tempo de retenção entre 4 e 11 minutos e em 26,96 minutos com absorção no comprimento de onda de 205 nm.

Os picos com maior percentual de área estão no tempo de retenção de 4,85; 5,86; 7,77; 10,73 e 26,96 minutos, com área de 4,02; 15,97; 4,67; 4,97 e 4,39 %, respectivamente (Fig. 8 e Tab. 5).

Figura 7 - Cromatograma obtido por CLAE da fração hidrometanólica do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa* e espectros de absorção dos constituintes referentes aos maiores picos.

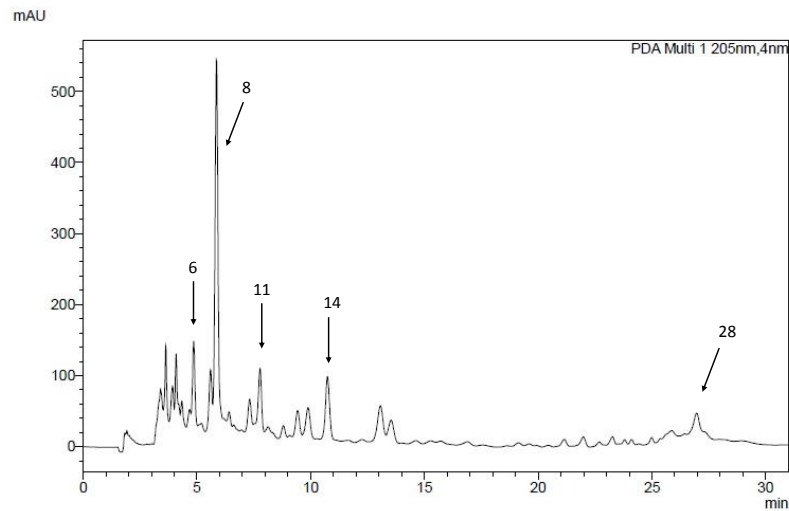
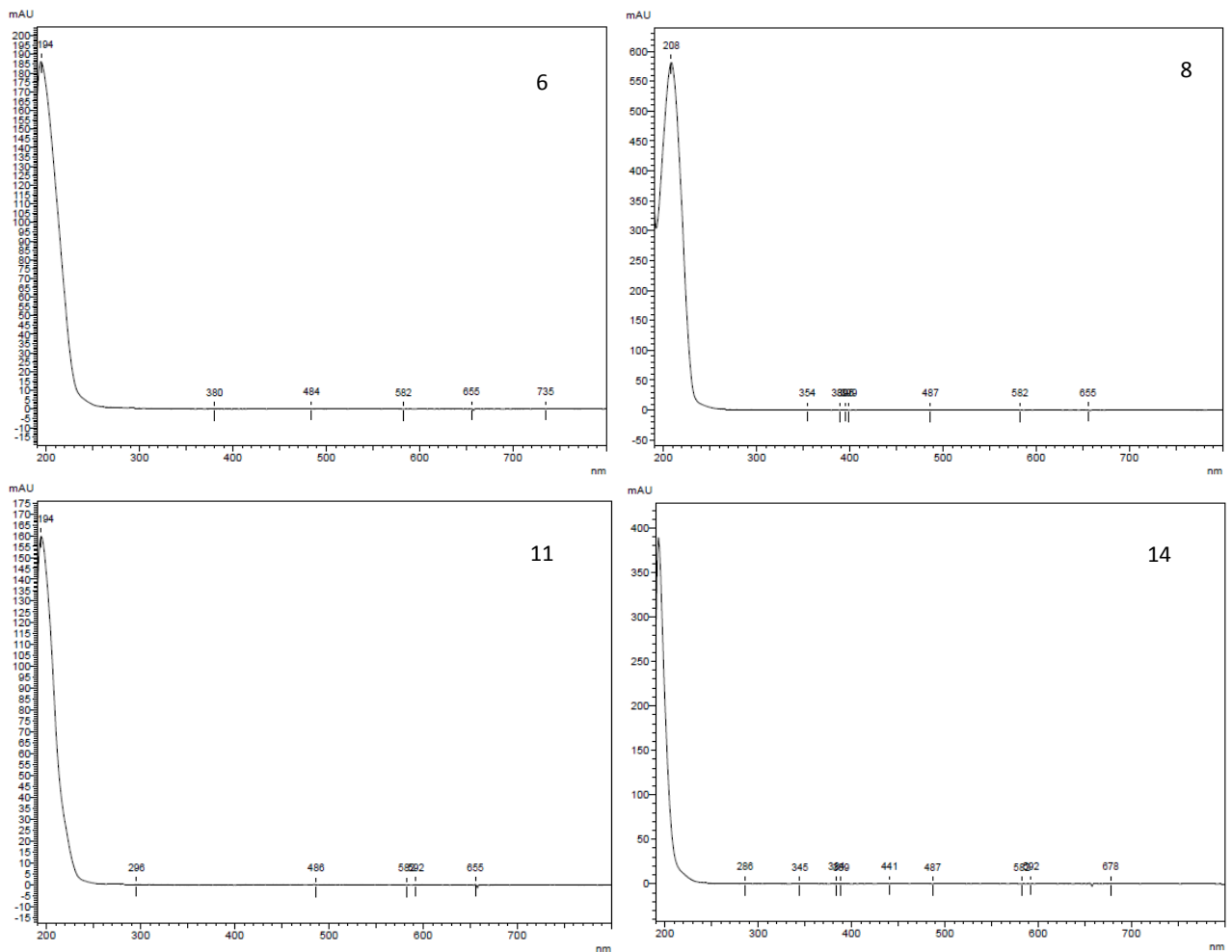


Figura 8 - Espectros de absorção dos constituintes referentes aos maiores picos (6, 8, 11, 14 e 28) da fração hidrometanólica do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa*



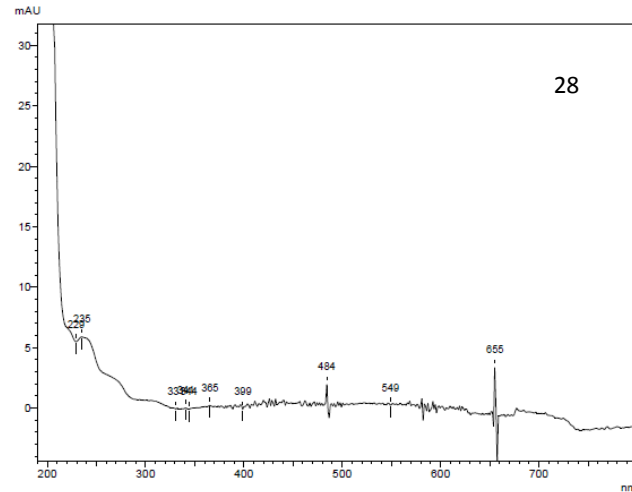


Tabela 5 - Principais picos obtidos por CLAE da fração hidrometanólica do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa*

Pico	Tempo de retenção (min)	Área (%)	Comprimento de onda (λ_1)	Comprimento de onda (λ_2)
1	3,40	3,69	209	275(om)
2	3,63	3,29	194	272
3	3,92	2,48	209	-
4	4,08	3,47	194	207
5	4,33	2,04	194	217
6	4,85	4,02	194	-
7	5,59	3,50	203	266
8	5,86	15,97	208	-
9	6,41	1,84	207	-
10	7,31	2,92	209	-
11	7,77	4,67	194	-
12	9,42	2,44	208	-
13	9,88	3,07	209	-
14	10,73	4,97	194	-
15	13,06	2,23	208	272
16	13,53	3,65	208	272
17	16,88	0,87	208	272
18	21,13	0,52	194	242
19	21,98	0,66	194	241
20	22,68	0,33	194	216
21	23,26	0,58	194	240
22	23,80	0,34	194	215
23	24,10	0,30	194	215
24	24,99	0,50	194	240
25	25,38	0,36	194	223
26	25,87	1,90	194	224
27	26,44	0,78	194	223
28	26,96	4,39	194	235
29	27,94	0,98	194	223

Fonte: Autora, 2018.

Na fração clorofórmica observou-se um constituinte no tempo de retenção de 5,84 minutos, com percentual de área igual a 15,72 % e comprimento de onda de 209 nm. Resultado semelhante apresentou a fração hidrometanólica, no tempo de retenção de 5,86 minutos, com percentual de área igual a 15,97 % e comprimento de onda de 208 nm, levando a indicar que se trata de um mesmo constituinte, com apenas uma pequena variação na concentração e comprimento de onda.

A faixa de absorção máxima para as acetogeninas de Annonaceae é de 190 nm a 225 nm (GU et al., 1999; LIAW et al., 2005). Desta forma, levando em consideração a análise da absorbância máxima de UV para a camada de picos presentes nos cromatogramas obtidos, os picos principais das frações clorofórmica e hidrometanólica são possivelmente acetogeninas, visto que se encontram nessa faixa. Para confirmação é necessário o estudo de forma mais detalhada através da identificação em ressonância magnética, comparação com bibliotecas entre outros métodos.

Na literatura são relatadas cerca de quarenta acetogeninas isoladas de *A. squamosa* (SALAZAR; SOTO, 2012). Das quais se pode citar a dieposabadelin, squamocenina, lepirenina e dotistenin (NDOB et al., 2009), annoglaxin, asimiacin (squamocin-D), bullatacin (squamocin-G), sesacetyluvaracin (squamocin-L), isoacetyluvaracin, squamocin e murisolin (YANG et al., 2010), annonacin, annonastatin, annonin VI, annotemoyin-2, squamocin-O1 e squamocin-O2 (PANDEY; BARVE, 2011). Sendo assim é grande a chance de se identificar a acetogenina no presente trabalho com pesquisas posteriormente.

3.3.3 Caracterização do microencapsulado de *Annona squamosa*

3.3.3.1 Análise de tamanho de partículas do microencapsulado de *Annona squamosa*

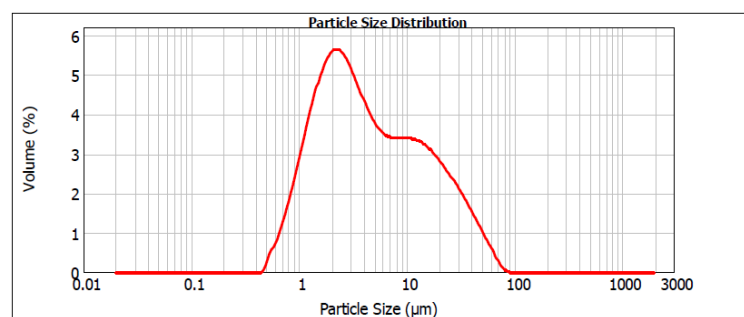
A distribuição do tamanho de partículas consiste em expressar a frequência da quantidade de partículas sólidas em cada faixa de tamanho, que normalmente é dada em fração mássica ou volumétrica, em função dos diferentes diâmetros de partícula encontrados em uma amostra (SATO, 2005).

As partículas apresentaram diâmetros variando de 0,55 a 79,43 μm sendo, portanto, classificadas como micropartículas que podem variar de 0,2 a 5000 μm , segundo Azeredo (2005).

Na Fig. 9 e Tab. 6, observa-se que as partículas têm uma distribuição bimodal, em função da apresentação de dois picos, que representam dois tamanhos de partículas

predominantes. Este resultado é importante quando se considera o armazenamento do pó, uma vez que a população de partículas menores pode penetrar nos espaços presentes entre as partículas maiores, ocupando menos espaço. A presença de partículas maiores pode ser atribuída a um começo do processo de aglomeração onde a formação de pontes de ligação irreversíveis para a produção de partículas com maior tamanho (TONON; BRABET; HUBINGER, 2009).

Figura 9 - Distribuição de tamanho de partícula do microencapsulado de *Annona squamosa* obtida por difração a laser



O índice de polidispersidade foi igual a 5,872, e quanto menor esse valor mais próximo está o percentual de diâmetro das partículas, indicando menor variação de tamanho ao longo da amostra, como no presente trabalho (Tab.6).

Tabela 6 - Índice de Polidispersidade e diâmetro médio de partículas em volume D [4,3] do microencapsulado de *Annona squamosa*

Índice de Polidispersidade	Tamanho (µm)			
	D (v,0,1)	D (v,0,5)	D (v,0,9)	D [4,3]
5,872	1,191	3,988	24,608	9,137

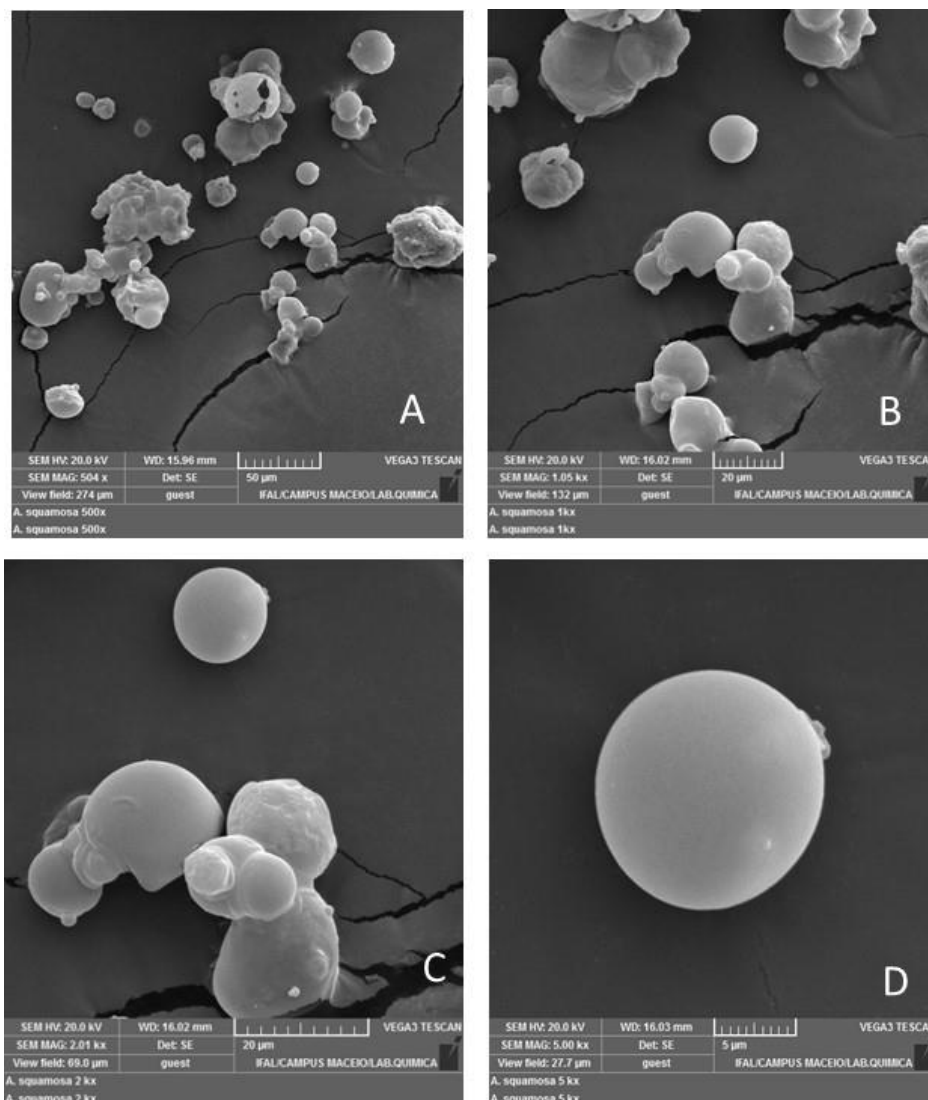
Fonte: Autora, 2018.

3.3.3.2 Caracterização morfológica do microencapsulado de *Annona squamosa* através do microscópio eletrônico de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura fornece informações sobre as características morfológicas das micropartículas, permitindo uma análise rápida e direta da eficiência do processo de encapsulação. Fornece informações do formato, tamanho e sobre a superfície da micropartícula, tais como a presença de fissuras e poros. A presença de fissuras e rachaduras pode comprometer a proteção oferecida ao encapsulado (ROSENBERG; KOPELMAN; TALMON, 1990; MUZZARELLI et al., 2004).

As micropartículas apresentaram formato esférico com variedade em tamanho, o que é característico das partículas produzidas pelo processo de *spray drying* (Fig. 10).

Figura 10 - Fotomicrografias do microencapsulado de *Annona squamosa*. Aumento de (A) 500x, (B) 1000x, (C) 2000x e (D) 5000x



As superfícies das micropartículas foram predominantemente lisas, sem fissuras ou rachaduras aparentes, o que é um ponto positivo, uma vez que essa característica representa menor permeabilidade das cápsulas a gases, aumenta a proteção e retenção do material ativo dentro da matriz encapsulante (CARNEIRO, 2011). Características morfológicas similares foram encontradas na microencapsulação do óleo de linhaça (TONON; GROSSO; HUBINGER, 2011) e do óleo de café verde, produzido com amidos modificados (CARVALHO; SILVA; HUBINGER, 2014).

Na microencapsulação do óleo essencial de alecrim produzido com inulina ou isolado proteico de soro, embora as partículas não tenham apresentado fissuras, foi observado aspecto rugoso na superfície ao aumentar a concentração de inulina (FERNANDES, et al., 2016).

Ao longo da amostra do microencapsulado de *A. squamosa* foi possível observar formação de matriz compactada “colada”. Esse fator ocorre pela presença da gelatina na composição da formulação, conforme observado em outros microencapsulados contendo gelatina (ZHAO; WHISTLER, 1994; BASÍLIO JÚNIOR, 2009).

3.3.3.3 Estudos Termogravimétricos (TGA)

Os estudos de estabilidade térmica do microencapsulado, do extrato hexânico e dos materiais de revestimento foram realizados por TGA e os resultados são apresentados na Tab. 7 e Fig. 10, com perdas de massas ocorridas e representadas nas curvas termogravimétricas.

O processo de termodecomposição inicia-se com o aquecimento, é relativo à perda de água (umidade) ou perda de água de cristalização dos seus componentes (MACÊDO et al., 1996).

Os estudos termogravimétricos do microencapsulado de *A. squamosa* tiveram cinco processos de decomposição: o primeiro teve início a 27,32 °C e término a 101,81 °C com perda de massa de 2,99 %, correspondente a umidade contida no microencapsulado. O segundo processo ocorreu num intervalo de temperatura entre 101,81 °C e 239,72 °C com perda de massa de 6,07 %. O terceiro teve início a 239,72 °C e término a 329,53 °C, com perda de massa de 21,41 %. O quarto teve início a 329,53 °C e término a 398,49 °C, com perda de massa de 28,50 % e o quinto processo teve início a 398,49 °C e término a 899,90 °C com perda de massa de 31,79 %. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 90,81 % e resíduo mineral de 9,19 % (Tab. 7 e Fig. 11).

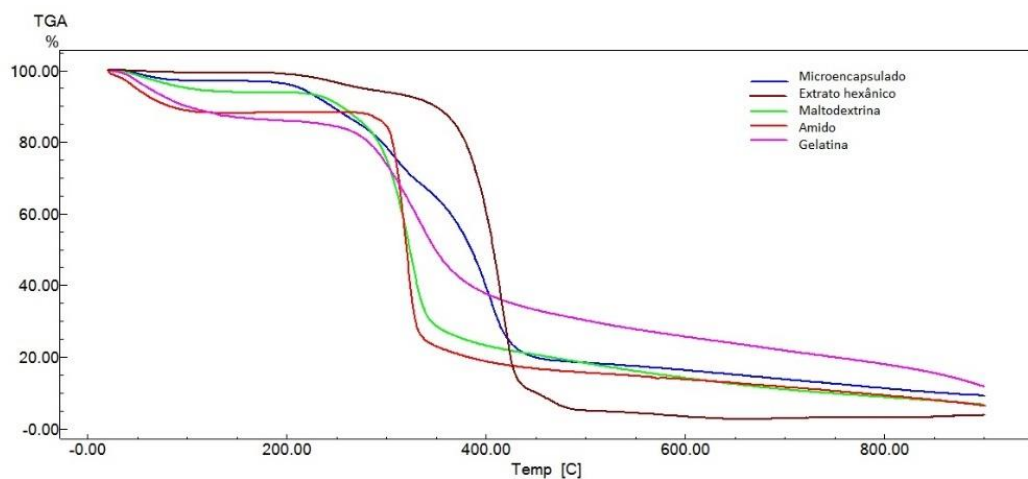
Tabela 7 - Dados termogravimétricos do microencapsulado, do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa* e dos materiais de revestimento aplicados nos estudos de microencapsulação

Amostra	Etapa	TG		
		^a Ti (°C)	^b Tf (°C)	^c %Δm
Microencapsulado	I	27,32	101,81	2,99
	II	101,81	239,72	6,07
	III	239,72	329,53	21,41
	IV	329,53	398,49	28,50
	V	398,49	899,90	31,79
	I-V	27,32	899,90	90,81
Extrato hexânico	I	20,71	127,54	0,63
	II	127,54	274,76	4,39
	III	274,76	409,52	48,08
	IV	409,52	457,59	37,89
	V	457,59	899,93	5,16
	I-V	20,71	899,93	96,21
Amido	I	21,90	128,16	11,56
	II	128,16	316,59	27,86
	III	316,59	898,67	53,77
	I-III	21,95	898,67	93,58
Gelatina	I	24,24	205,69	14,01
	II	205,69	323,80	22,77
	III	323,80	632,34	38,59
	IV	632,34	899,80	12,64
	I-IV	24,24	899,80	88,27
Maltodextrina	I	22,79	157,93	6,12
	II	157,93	313,59	30,85
	III	313,59	899,90	56,97
	I-III	22,79	899,90	93,28

^aTi: temperatura inicial; ^bTf: temperatura final; ^c%Δm: perda de massa.

Fonte: Autora, 2018.

Figura 11 - Curvas de TGA do microencapsulado, do extrato hexânico de *Annona squamosa* e dos materiais de revestimento aplicados nos estudos de microencapsulação



A curva termogravimétrica do extrato hexânico de *A. squamosa* teve cinco processos de decomposição: o primeiro teve início a 20,71 °C e término a 127,54 °C com perda de massa de 0,63 % correspondente a umidade contida no extrato e provavelmente uma pequena quantidade do hexano, o solvente utilizado na preparação do extrato. O segundo processo ocorreu no intervalo de 127,54 °C e 274,76 °C com perda de massa de 4,39 %. O terceiro teve início a 274,76 °C e término a 409,52 °C com perda de massa de 48,08 %. O quarto processo teve início a 409,52 °C e término a 457,59 °C com perda de massa de 37,89 %. O quinto teve início a 457,59 °C e término a 899,93 °C com perda de massa de 5,16 %. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 96,21 % e resíduo mineral de 3,79 % (Tab.7 e Fig. 11).

A curva termogravimétrica do amido teve três processos de decomposição: o primeiro teve início a 21,90 °C e término a 128,16 °C com perda de massa de 11,56 %. O segundo processo ocorreu num intervalo de temperatura entre 128,16 °C e 316,59 °C com perda de massa de 27,86 %. O terceiro teve início a 316,59 °C e término a 898,67 °C, com perda de massa de 53,77 %. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 93,58 % e resíduo mineral de 6,42 % (Tab. 7 e Fig. 11).

A curva termogravimétrica da gelatina teve quatro processos de decomposição: o primeiro teve início a 24,24 °C e término a 205,69 °C com perda de massa de 14,01 %. O segundo processo ocorreu num intervalo de temperatura entre 205,69 °C e 323,80 °C com perda de massa de 22,77 %. O terceiro teve início a 323,80 °C e término a 632,34 °C, com perda de massa de 38,59 %. O quarto teve início a 632,34 °C e término a 899,80 °C, com perda de massa de 12,64 %. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 88,27 % e resíduo mineral de 11,73 % (Tab. 7 e Fig. 11).

A curva termogravimétrica da maltodextrina teve três processos de decomposição: o primeiro teve início a 22,79 °C e término a 157,93 °C com perda de massa de 6,12 %. O segundo processo teve início a 157,93 °C e término a 313,59 °C com perda de massa de 30,85 %. O terceiro teve início a 313,59 °C e término a 899,90 °C, com perda de massa de 56,97 %. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 93,28 % e resíduo mineral de 6,72 % (Tab. 7 e Fig. 11).

3.3.3.4 Toxicidade letal do microencapsulado de *Annona squamosa* a *Tetranychus urticae*

O microencapsulado de *A. squamosa* teve CL₅₀ e CL₉₉ estimadas em 5,37 e 45,26 g/L, respectivamente, para o ácaro *T. urticae* (Tab. 8).

Tabela 8 - Concentração Letal (CL) (g/L) do microencapsulado de *Annona squamosa* sobre *Tetranychus urticae*

Tratamento	n ^a	GL ^b	Inclinação ± EP ^c	CL ₅₀ (IC 95%)	CL ₉₉ (IC 95%)	χ^2 _d	P
Microencapsulado	360	4	2,51 ± 0,29	5,37 (4,47-6,20)	45,26 (31,85-78,15)	7,56	0,10

^a Número de ácaros utilizados em cada experimento.

^b Grau de liberdade do qui-quadrado

^c Erro Padrão

^d Qui-quadrado

Fonte: Autora, 2018.

Considerando que na produção do microencapsulado foi utilizado 50 % do extrato hexânico e os outros 50 % representam os polímeros. Podemos concluir que, o microencapsulado teve eficiência semelhante ao extrato hexânico, porém com a vantagem de diminuir o seu efeito tóxico ao meio ambiente, visto que o extrato está encapsulado com materiais que não são tóxicos, podendo ocorrer a aplicação do produto pelos agricultores de forma mais segura, com menor risco de causar intoxicações. Assim como, possuir uma liberação controlada e com semelhante toxicidade letal sobre a praga.

Outros autores, observaram que nanopartículas de enxofre em comparação ao enxofre tem efeitos mais significativos sobre adultos e ninfas de *T. urticae*, com concentrações letais menores para as nanopartículas de enxofre, tanto nos bioensaios laboratoriais como em casa de vegetação (GAVANJI et al., 2013). Nanopartículas de prata também foram eficientes, causando mortalidade ao ácaro *T. urticae* em experimentos com metodologia de imersão, no entanto, quando pulverizado apresentou maior mortalidade (JALALIZAND et al., 2013).

O extrato de raiz de *Saponaria officinalis* L. (Caryophyllaceae) e as nanopartículas de *S. officinalis* fabricadas com prata, também tiveram eficácia como acaricida. A CL₅₀ da nanopartícula para ninfas foi de 1,2 g L⁻¹ e a CL₉₀ foi de 2,8 g L⁻¹, significativamente menor se comparada com o extrato com CL₅₀ igual a 7,8 g L⁻¹ e CL₉₀ igual a 11,9 g L⁻¹. Os adultos de *T. urticae* mostraram menor sensibilidade, com CL₅₀ de 6,1 e 19,9 g L⁻¹ para nanopartículas e extrato, respectivamente. E CL₉₀ igual a 15,4 e 36,1 g L⁻¹ para nanopartículas e extrato, respectivamente (PAVELA et al., 2017).

Para o sucesso na produção e comercialização do acaricida microencapsulado de extrato de semente de *A. squamosa*, ainda existem algumas etapas, como avaliação do efeito fitotóxico, tempo de validade do produto, período de carência, toxicidade a mamíferos, identificação e quantificação do princípio ativo, entre outros. No entanto, partindo do presente trabalho é

sabido do seu efeito acaricida e a partir do exposto, novas pesquisas devem ser realizadas com a finalidade de regulamentação do produto.

3.4 Conclusões

- O extrato hexânico é mais eficiente na mortalidade do ácaro *T. urticae* quando comparado ao extrato etanólico de semente de *Annona squamosa*.

- O microencapsulado apresenta micropartículas lisas, sem rachaduras e com pouca variação de tamanho ao longo da amostra e tem cinco processos de decomposição.

- O controle do ácaro *T. urticae* com o uso do microencapsulado de *A. squamosa* é promissor, por causar toxicidade letal na praga.

REFERÊNCIAS

- ÁLVAREZ COLOM, O. et al. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Pesticide Science**, v. 80, p. 63–67, 2007.
- AZEREDO, H. M.C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.
- BARRETO, C. F. *Aedes aegypti* - Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 1, n. 2, p. 62-73, 2005.
- BASÍLIO JÚNIOR, I. D. **Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para produtos de *Mentha piperita* L. obtidos de diferentes tecnologias farmacêuticas**. 177f. 2009. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2009.
- BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, v. 22, p. 269-303, 2005.
- BLISS, C. I. The method of probits. **Science**, v. 79, p. 38-39, 1934.
- BRITO, C. H. et al. Avaliação de produtos alternativos e pesticidas no combate a Cochonilha-do-carmim na Paraíba. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, p. 1-5, 2008.
- CARNEIRO, H. C. F. **Microencapsulação de óleo de linhaça por *spray drying*: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede**. 113f. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2011.
- CARVALHO, A. G. S.; SILVA, V. M.; HUBINGER, M. D. Microencapsulation by spray drying of emulsified green coffee oil with two-layered membranes. **Food Research International**, v. 61, p. 236 - 245, 2014.
- CASTILLO-SÁNCHEZ, L. H. C.; JIMÉNEZ-OSORNIO, J. J.; DELGADO-HERRERA, M. A. Secondary metabolites of the Annonaceae, Solanaceae and Meliaceae families used as biological control of insects. **Tropical and Subtropical Agroecosystema**, v. 12, n. 3, p. 445-462, 2010.
- FERNANDES, M. H. A. et al. Bioactivity of the organic extracts of *Annona vepretorum* on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 9, p.707-714, 2017.
- FERNANDES, R. V. B. et al. Comportamento de óleo essencial de alecrim microencapsulado por *spray drying* em diferentes umidades relativas. **Ciência Agrícola**, v. 14, n. 1, p. 73-82, 2016.
- GAVANJI, S. et al. Comparative acaricidal efficacy of sulfur and nano sulfur against *Tetranychus urticae*. **International Journal of Scientific Research in Inventions and New Ideas**, v. 1, n. 2, p. 23-28, 2013.

- GHARSALLAOUI A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107–1121, 2007.
- GU, Z.-M. et al. Quantitative evaluation of annonaceous acetogenins in monthly samples of Paw Paw (*Asimina triloba*) twigs by liquid chromatography/electrospray ionization/ tandem mass spectrometry. **Phytochemical Analysis**, v. 10, p. 32–38, 1999.
- JALALIZAND, A. et al. The effect of Silver nanoparticles on *Tetranychus urticae*. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 5, n. 8, p. 820-827, 2013.
- KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 225-242, 2014.
- LIAW, C. C. et al. Novel cytotoxic monotetrahydrofuranic Annonaceous acetogenins from *Annona montana*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 4767–4776, 2005.
- MACÊDO, R. O. **Controle de Qualidade de Formas Farmacêuticas Sólidas Através de Dados Termogravimétricos**. 1996. Tese do Concurso de Professor Titular- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 1996.
- MACIEL, A. G. S. et al. Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 48, p. 4370-4375, 2015.
- MARCOMINI, A. M. **Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)**. 2009. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 2009.
- MARSARO JÚNIOR, A. L. et al. Efeito de acaricidas sobre *Schizotetranychus hindustanicus* (Hirst) (Acari: Tetranychidae) e ácaros predadores em citros no estado de Roraima, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 1, p. 75-83, 2012.
- MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S.; MARTIN NETO, L. A revolução nanotecnológica e o potencial para o agronegócio. **Revista de Política Agrícola**, v. 14, n. 4, p. 38-48, 2005.
- MEYER, G. A.; KOVALESKI, A.; VALDEBENITO-SANHUEZA R. M. Seletividade de agrotóxicos usados na cultura da macieira a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 381-387, 2009.
- MORAES, G. J.; FLECHTMANN, C. H. W. **Manual de Acarologia**. Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos, 2008. 308 p.
- MUZZARELLI, C. et al. Spray-drying of solutions containing chitosan together with polyuronans and characterization of the microspheres. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, p. 73-82, 2004.
- NDOB, I. B. B. et al. Annonaceous acetogenins: Precursors from the seeds of *Annona squamosa*. **Phytochemistry Letters**, v. 2, p. 72–76, 2009.

- NICASTRO, R. L.; SATO, M. E.; SILVA, M. Z. da. Milbemectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin. **Experimental and Applied Acarology**, v. 50, p. 231-241, 2010.
- PANDEY, N.; BARVE, D. Phytochemical and pharmacological review on *Annona squamosa* Linn. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 2, p. 1404-1412, 2011.
- PAVELA, R. et al. Saponaria officinalis-synthesized silver nanocrystals as effective biopesticides and oviposition inhibitors against *Tetranychus urticae* Koch. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 338-344, 2017.
- PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as eco-friendly biopesticides? Challenges and constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, p. 1000-1007, 2016.
- POTENZA, M. R. et al. Avaliação acaricida de produtos naturais para o controle de ácaro vermelho do cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 499-503, 2005.
- REIS, P. R. et al. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 265-274, 1998.
- REIS, P. R.; ALVES, E. B. Criação do ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark Muma (Acari: Phytoseiidae) em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 565-568, 1997.
- ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 1288-1294, 1990.
- SANTOS, L. **Efeito dos extratos orgânicos de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. (Annonaceae) sobre o pulgão *Aphis gossypii* (Glover, 1887) (Hemiptera: Aphididae) e seletividade ao predador *Eriopis connexa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae)**. 59f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas, AL, 2016.
- SALAZAR, M. A.; SOTO, R. F. **Estudio de la actividad biopesticida *in vitro* de los extractos polares de las semillas de *Annona squamosa* frente a *Culex quinquefasciatus***. 103 f. Tese (Doutorado em Química) - UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA - FACULTAD DE TECNOLOGÍA ESCUELA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA PEREIRA, 2012.
- SAS Institute Inc. **Statistical Analysis System user's guide**, version 9.1, Ed. Cary: Institute, USA, 2003.
- SATO, A. C. K. **Influência do tamanho de partículas no comportamento reológico da polpa de jaboticaba**. Campinas, 2005. 73f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, SP, 2005.

SATO, M. E. et al. Toxicidade diferencial de agroquímicos a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em morangueiro. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 3, p. 449-456, 2002.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. A. ASSISTAT, **Assistência estatística**. Versão 7.7 pt 2017.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 444-450, 2009.

TONON, R. V.; GROSSO, A. R. F.; HUBINGER, M. D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, p. 282-289, 2011.

TRINDADE, R. C. P. et al. Toxicity of soursop extracts to diamondback moth. **Bioscience Journal**, v. 34, n. 1, p. 104-111, 2018.

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

WU, Y-C. Citotoxic annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. **United States Patent Application Publication**, 2003.

YANG, H. et al. HPLC method for the simultaneous determination of ten annonaceous acetogenins after supercritical fluid CO₂ extraction. **International journal of Biomedical science**, v. 6, p. 202-207, 2010.

ZHAO, J.; WHISTLER, R. L. Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. **Food Technology**, v. 48, n. 7, p. 104-105, 1994.

4 EFEITOS LETAIS E SUBLETAIS DO EXTRATO HEXÂNICO E DO MICROENCAPSULADO DE *Annona squamosa* L. (ANNONACEAE) A *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (ACARI: TETRANYCHIDAE)

RESUMO

O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), é de grande importância, podendo causar perdas consideráveis em frutíferas, hortaliças, plantas ornamentais e medicinais. Indivíduos que sobrevivem à exposição de acaricidas podem sofrer com efeitos subletais. A pinha, ata ou fruta-do-conde, *Annona squamosa* L. (Annonaceae) se destaca entre plantas com potencial acaricida. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade subletal referente ao efeito ovicida, efeito repelente, taxa instantânea de crescimento populacional e efeito residual do extrato hexânico de *A. squamosa* e do microencapsulado de *A. squamosa* ao ácaro rajado, *T. urticae*. Desta forma, para o efeito ovicida foram utilizadas as CL₅₀ e CL₉₉ de ambos os produtos e foram aplicadas em discos de folhas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L. DC) (Fabaceae) contendo 10 ovos, totalizando 20 repetições para cada tratamento, durante 144 horas a eclosão das larvas foi avaliada. Para avaliar o efeito repelente, discos de folhas de feijão-de-porco foram pulverizadas com água (controle) ou com os tratamentos (CLs 5, 25, 50, 75, 95 e 99 do extrato hexânico e do microencapsulado de *A. squamosa*). Em seguida, foram colocados em uma placa de Petri e foram conectados por uma lamínula, ficando de um lado o disco foliar com tratamento e do outro o controle. No centro da lamínula 10 fêmeas de *T. urticae* foram liberadas e após 2 horas foi avaliado o número de fêmeas em cada disco, foram feitas 15 repetições por tratamento. Para a taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), discos de feijão-de-porco foram pulverizados com o extrato hexânico e o microencapsulado de *A. squamosa* (CLs 5, 25, 50, 75 e 95) e a testemunha. Foram transferidas cinco fêmeas por disco e utilizadas cinco repetições por tratamento. Após sete dias, o número total de ácaros foi contabilizado. Para avaliar o efeito residual mudas de feijão-de-porco foram pulverizadas com a CL₅₀ e CL₉₉ do extrato e do microencapsulado e água destilada. Após 2 h da aplicação e durante o período de 15 dias após aplicação (DAP) foram retirados discos foliares, colocados em placas de Petri e transferidas 10 fêmeas de *T. urticae*, a avaliação da mortalidade foi 72 h após. O microencapsulado na CL₉₉ foi o tratamento que apresentou a menor viabilidade de ovos com $7,5 \pm 2,70$ % de ovos viáveis. Foi observado efeito repelente para o extrato hexânico de *A. squamosa* a partir da CL₉₅ e para o microencapsulado de *A. squamosa* a partir da CL₅₀. A taxa instantânea populacional para ambos os produtos decresceu com o aumento das concentrações. No efeito residual, observou-se que o microencapsulado na CL₉₉ foi eficiente até o 8° DAP com mortalidade de $61,2 \pm 10,4$ %. E o extrato hexânico na CL₉₉ foi eficiente até o 15° DAP com mortalidade de $61,2 \pm 11,0$ %, no experimento conduzido em casa de vegetação. Para o experimento de campo 1, o microencapsulado na CL₉₉ foi eficiente até o 6° DAP com mortalidade de $61,2 \pm 8,1$ %. E o extrato hexânico na CL₉₉ foi eficiente até o 7° DAP com mortalidade de $58,7 \pm 10,3$ %. No experimento de campo 2, o extrato hexânico na CL₉₉, apresentou eficiência até o 10° DAP, com $75,0 \pm 6,0$ % de mortalidade e o microencapsulado até o 9° DAP com $61,2 \pm 6,1$ % de mortalidade. Conclui-se que o extrato hexânico e o microencapsulado de *A. squamosa* podem causar efeito subletal a *T. urticae* podendo serem utilizados no manejo da praga.

Palavras-chave: Ácaro rajado. Pinha. Acaricida botânico.

ABSTRACT

The two-spotter mite, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), is of great importance, may cause considerable losses in of fruit, vegetables, ornamental and medicinal plants. Individuals who survive the exposure of acaricides may suffer from sublethal effects. The sugar apple, *Annona squamosa* L. (Annonaceae) stands out among a diversity of plants with insecticidal/acaricidal potential. The objective of this work was to test the sublethal toxicity related to ovicidal effect, repellent effect, instantaneous population growth rate and residual effect of the *A. squamosa* hexanic extract and the microencapsulated of *A. squamosa*, on *T. urticae*. Thus, for the ovicidal effect the LC₅₀ and LC₉₉ of both products were used and were applied in jack bean leaf (*Canavalia ensiformis* L. DC) (Fabaceae) containing 10 eggs, totaling 20 replicates for each treatment, during 144 hours the hatching of the eggs was evaluated. To evaluate the repellent effect, leaves of pigs were sprayed with water (control) or with the treatments (CLs 5, 25, 50, 75, 95 and 99 of the hexanic extract and the microencapsulate of *A. squamosa*). Afterwards, they were placed in a Petri dish and connected by a coverslip, leaving on one side the leaf disc with treatment and the other on the control. At the center of the coverslip 10 females of *T. urticae* were released and after 2 hours the number of females on each disc was evaluated, 15 replicates were made per treatment. For the instantaneous rate of population growth (r_i), bean discs were sprayed with the hexanic extract and the microencapsulated of *A. squamosa* (LCs 5, 25, 50, 75 and 95) and the control. Five females were transferred per disc and five replicates were used per treatment. After seven days, the total number of mites was counted. To evaluate the residual effect seedlings of pigs were sprayed with the LC₅₀ and LC₉₉ of the extract and the microencapsulated and distilled water. After 2 h of application and during the period of 15 days after pulverization (DAP) leaf discs were removed, placed in Petri dishes and transferred 10 females of *T. urticae*, the mortality evaluation was 72 h after. The microencapsulated in LC₉₉ was the treatment that presented the lowest viability of eggs with 7.5 ± 2.70 % of viable eggs. A repellent effect was observed for the hexanic extract of *A. squamosa* as from LC₉₅ and for the microencapsulated *A. squamosa* as from LC₅₀. The instantaneous population rate for both products decreased with increasing concentrations. In the residual effect, it was observed that the microencapsulated in the LC₉₉ was efficient until the 8th DAP with mortality of 61.2 ± 10.4 %. And the hexanic extract in the LC₉₉ was efficient until the 15 th DAP with mortality of 61.2 ± 11.0 %, in the experiment conducted in greenhouse. For the field experiment 1, the microencapsulated in the LC₉₉ was efficient until the 6th DAP with a mortality of 61.2 ± 8.1 %. And the hexanic extract in LC₉₉ was efficient until the 7th DAP with mortality of 58.7 ± 10.3 %. In the field experiment 2, hexanic extract in LC₉₉ showed efficiency up to 10th DAP, with $75.0 \pm 6.0\%$ mortality and microencapsulation up to 9th DAP with $61.2 \pm 6.1\%$ mortality. It is concluded that the hexanic extract and the microencapsulate of *A. squamosa* can cause sublethal effect at *T. urticae* and can be used in pest management.

Key works: Two-spotter mite. Sugar apple. Botanical acaricide.

4.1 Introdução

O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), é uma praga de grande importância, devido à alta capacidade de obter resistência e por ser uma espécie polífaga, podendo causar perdas consideráveis em diversas culturas, por exemplo, espécies de frutíferas, hortaliças, plantas ornamentais e medicinais (MORAES; FLECHTMANN 2008; SATO et al., 2009; NICASTRO; SATO; SILVA, 2010; MONTEIRO et al., 2015).

As concentrações letais são amplamente utilizadas para avaliar a toxicidade de acaricidas/inseticidas às pragas. No entanto, é considerada uma medida incompleta de avaliação da toxicidade, visto que considera apenas a mortalidade como parâmetro (STARK; BANKS, 2003; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

Indivíduos que sobrevivem à exposição desses produtos podem sofrer com efeitos subletais que podem ser observados por interferências na taxa de oviposição (SIVIRA et al., 2011; ALVES et al., 2011), na viabilidade de ovos (MACIEL et al., 2015), na taxa de crescimento populacional e no forrageamento (TEODORO; PALLINI; OLIVEIRA, 2009; SOTO et al., 2010) e interferências em aspectos biológicos (SILVA et al., 2013).

A pinha, ata ou fruta-do-conde, *Annona squamosa* L. (Annonaceae) se destaca entre uma diversidade de plantas com potencial inseticida/acaricida. Plantas dessa família apresentam acetogeninas como principal composto ativo. Agem como inibidoras do transporte de elétrons mitocondrial, afetando a ação do NADH-ubiquinona oxireductase (ÁLVARES COLOM et al. 2007; KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

Os acaricidas botânicos geralmente são menos tóxicos aos mamíferos, ao ambiente e aos inimigos naturais e normalmente previnem a seleção de populações resistentes, por serem provenientes de uma mistura de compostos, ao invés de uma simples molécula tóxica. Além disso, apresentam uma rápida degradação pela luz solar, umidade e precipitação (BLEICHER, 2012).

No entanto, essa rápida degradação, também pode ser considerada uma desvantagem, pois a curta duração de persistência do efeito significa que sua aplicação deve ser repetida, o que aumenta os custos para o produtor (PAVELA; BENELLI, 2016). Uma alternativa para isso é o preparo de formulações, que venham a apresentar características de estabilidade e liberação lenta, como por exemplo, formulações microencapsuladas.

O processo de microencapsulação é responsável pela produção de micropartículas que consiste em envolver, com um fino filme de uma matriz qualquer, pequenas gotículas de uma substância ativa, sendo esta chamada de núcleo (GHARSALLAOUI et al., 2007).

Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade letal e subletal referentes ao efeito ovicida, ao efeito repelente, a taxa instantânea de crescimento populacional e ao efeito residual do extrato hexânico de *A. squamosa* e do o microencapsulado de *A. squamosa* ao ácaro rajado, *T. urticae*.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Obtenção e criação do ácaro *Tetranychus urticae*

Os ácaros foram provenientes de criação mantida no Laboratório de Entomologia: Controle Alternativo de Pragas no CECA/UFAL, em Rio Largo, AL a temperatura ambiente de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12 horas.

Esses ácaros foram mantidos em mudas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L. DC) (Fabaceae) cultivadas em vasos de polietileno com capacidade de 5 L, contendo uma mistura de solo e esterco bovino 10-10, em casa de vegetação. Para a manutenção da criação, constantemente vasos contendo mudas novas foram colocados próximos das mudas contendo a criação do ácaro.

4.2.2 Preparo dos extratos orgânicos da semente de *Annona squamosa*

Sementes de *A. squamosa* foram retiradas de frutos coletados em área experimental do setor de fruticultura do CECA/UFAL. As sementes (7,0 kg) foram lavadas para retirada dos resíduos, colocadas em sacos de papel Kraft e levadas para secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 50°C por 72 horas. Em seguida, foram trituradas em triturador Trapp para a obtenção do pó, que foi devidamente armazenado em recipientes de vidro hermeticamente fechados até o preparo dos extratos.

Os extratos foram preparados no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais da UFAL. O pó das sementes, foi submetido à extração à frio em percolador de aço inoxidável, primeiramente utilizando como solvente extrator três litros de hexano ficando 2 h em maceração, em seguida, o macerado foi retirado e concentrado em rotaevaporador a 50°C , à pressão reduzida.

Depois sobre a torta resultante após a filtração, foi acrescentado o etanol como solvente extrator na quantidade de 3,3 mL ficando em maceração por 72 horas. O macerado foi retirado

e concentrado em rotaevaporador e o solvente readicionado ao percolador. Este processo se repetiu três vezes.

Obteve-se rendimento de 1,00 kg de resíduos concentrados para o extrato hexânico e 0,70 kg para o extrato etanólico. Posteriormente os extratos foram colocados em frasco de vidro, vedados e armazenados em temperatura ambiente. Para os testes seguintes foi utilizado apenas o extrato avaliado como mais eficiente, ou seja, com menor CL_s estimada para o *T. urticae*.

4.2.3 Microencapsulação do extrato da semente de *Annona squamosa*

A microencapsulação foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Controle de Medicamentos da UFAL utilizando o aparelho de modelo BUCHI Mini Spray Dryer B-290, a uma temperatura de entrada de 200°C, fluxo de ar de 80 m³/min e velocidade de rotação de 26 RPM. Foram testados os encapsulantes: amido, gelatina, maltodextrina e aerosil em diversas proporções e selecionada a mais adequada para a formação da micropartícula. A seleção do percentual de cada um foi baseada no teor de matéria-seca, que foi igual a 94,4 %, obtido através do método gravimétrico, por meio de balança eletrônica de umidade Shimadzu MOC-120H[®], com precisão de 1 mg e com secador de infravermelho. Para tanto, cerca de 1 mL do extrato hexânico foi seco sob temperatura de 120 ° C, até obter perda de umidade inferior a 0,01 (Tab.9).

A solução foi preparada em agitação constante, nas proporções do material excipiente indicadas abaixo, para cada 80 mL de água destilada (a 40 °C) e 85 mL de álcool etílico absoluto P.A (Tab. 9). O rendimento final do microencapsulado foi de 73,37%.

Tabela 9 - Porcentagem do material utilizado no preparo da formulação do microencapsulado de *Annona squamosa*

Material	Porcentagem (%)
Extrato hexânico de pinha	50,00
Maltodextrina	24,50
Gelatina em pó sem sabor	9,50
Amido	9,50
Aerosil	6,49

Fonte: Autora, 2018.

4.2.4 Concentrações letais do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* sobre fêmeas *Tetranychus urticae*

Foram realizados pré-testes com o extrato hexânico e com o microencapsulado de *A. squamosa* em diferentes concentrações para determinar valores próximos do limite superior, com aproximadamente 100% de mortalidade, e próximos do limite inferior, com mortalidade quase nula. Em seguida, as concentrações testadas foram obtidas pela fórmula de BLISS (1934): $q = (a_n \div a_1)^{1/n+1}$ onde: q = razão da progressão geométrica (pg); n = número de concentrações a extrapolar; a_n e a_1 = limites superior e inferior, respectivamente, da pg. As concentrações testadas para o extrato hexânico foram: 0,46; 0,84; 1,86; 3,25; 6,14 e 12,10 g/L, e para o microencapsulado foram: 3,5; 5,1; 7,4; 10,8; 15,9 e 23,2 g/L. As soluções dos extratos foram solubilizadas em água destilada acrescentando-se o emulsificante Tween 80 (0,05 %). O controle utilizado foi uma solução de água destilada e Tween 80 (0,05 %).

Foram confeccionados discos de 5,0 cm de diâmetro com folhas de feijão-de-porco, os quais foram pulverizados com os extratos em diferentes concentrações, utilizando-se torre de Potter (Burkard, Rickmansworth, UK). A aplicação foi realizada a uma pressão de 5 psi/pol² utilizando-se um volume de calda de 1,6 mL, correspondendo a um depósito de $2,0 \pm \text{mg/cm}^2$. Esta quantidade aplicada está de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/ West Palearctic Regional Section) e representa o que ocorrerá no campo (REIS et al., 1998).

Em seguida, os discos foram colocados para secar sobre papel toalha à temperatura ambiente durante uma hora e transferidos para placas de Petri (8,5 cm de diâmetro) contendo um alfinete colado com silicone no fundo da mesma e água destilada para evitar a fuga dos ácaros. No centro de cada disco foi feito um orifício para passagem do alfinete e fixação do disco foliar. Desta forma, os discos permaneceram sem tocar na parede da placa, deslocando-se apenas com o nível da água (REIS; ALVES 1997). Um total de 10 fêmeas do ácaro rajado foi transferido para cada disco (repetição), totalizando seis repetições por concentração.

A mortalidade dos ácaros foi avaliada com 72 horas após a pulverização, sendo considerados mortos quando não conseguiam se mover a uma distância equivalente ao comprimento de seu corpo (SATO et al., 2002). As concentrações letais (CL_s) foram estimadas através da análise de Probit, pelo programa estatístico SAS (SAS Institute, 2003).

4.2.5 Efeito ovicida do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* a *Tetranychus urticae*

Fêmeas adultas de *T. urticae* de idade não conhecida foram retiradas das colônias e transferidas para discos de folhas de feijão-de-porco de 3,0 cm de diâmetro dispostos em placas de Petri (14 cm de diâmetro), contendo algodão hidrófilo umedecido. Após 24 horas, as fêmeas foram retiradas e deixados 10 ovos por disco. Estes foram pulverizados com o extrato e microencapsulado nas CL₅₀ e CL₉₉ e controle (água + Tween 80), utilizando-se torre de Potter, segundo metodologia adaptada de Schlesener et al. (2013).

Foram utilizadas 20 repetições para cada tratamento. A avaliação da eclosão das larvas foi realizada diariamente até 144 h após a instalação do experimento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade, pelo Assistat 7.7 pt (SILVA; AZEVEDO, 2017).

4.2.6 Efeito repelente do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* a *Tetranychus urticae*

Discos foliares (5,0 cm de diâmetro) de feijão-de-porco foram pulverizados com o extrato hexânico de *A. squamosa* ou com o microencapsulado de *A. squamosa* em diferentes concentrações, e água destilada (controle) utilizando-se torre de Potter (Burkard, Rickmansworth, UK). A aplicação foi realizada a uma pressão de 5 psi/pol² utilizando-se um volume de calda de 1,6 mL, correspondendo a um depósito de 2,0 ± mg/cm². Esta quantidade aplicada está de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/ West Palearctic Regional Section) e representa o que ocorrerá no campo (REIS et al., 1998). Em seguida foram colocados lado a lado, e conectados por uma lamínula de vidro (18 x 18 mm). De um lado o disco foliar com o tratamento e do outro com água destilada (controle). Esse conjunto, foi disposto sobre papel de filtro saturado em água destilada no interior de placas de Petri (14 cm de diâmetro), segundo metodologia adaptada de Esteves Filho et al. (2010).

Foram utilizadas 15 repetições por tratamento e as concentrações testadas foram referentes as CLs 5, 25, 50, 75, 95 e 99 do extrato hexânico de *A. squamosa* e do microencapsulado de *A. squamosa*.

Na porção mediana da lamínula foram liberadas dez fêmeas de *T. urticae*, obtidas da criação, e após duas horas foi avaliado o número de fêmeas em cada disco.

O índice de Repelência (IR) foi calculado de acordo com a fórmula: $IR = 2G/(G+P)$ de acordo com Kogan e Goeden (1970), onde G é o número de ácaros no tratamento e P é o número de ácaros no controle. O intervalo de segurança utilizado para considerar se o tratamento foi ou não repelente foi obtido a partir da média dos IR calculado e seu respectivo desvio padrão (DP). Seguindo-se os padrões para o índice em questão, como seguem: se a média do IR for menor que $1 - DP$, o produto é repelente. Se a média for maior que $1 + DP$ o produto é atraente e se a média estiver entre $1 - DP$ e $1 + DP$ o produto é considerado neutro.

4.2.7 Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de *Tetranychus urticae*

Discos de folhas de feijão-de-porco (5,0 cm de diâmetros) foram pulverizados com o extrato hexânico e o microencapsulado de *A. squamosa* (CLs 5, 25, 50, 75 e 95) e a testemunha, utilizando-se torre de Potter (Burkard, Rickmansworth, UK). Em seguida, os discos foram colocados para secar sobre papel toalha à temperatura ambiente durante uma hora e transferidos para placas de Petri (8,5 cm de diâmetro) contendo um alfinete colado com silicone no fundo da mesma e água destilada para evitar a fuga dos ácaros. No centro de cada disco foi feito um orifício para passagem do alfinete e fixação do disco foliar. Desta forma, os discos permaneceram sem tocar na parede da placa, deslocando-se apenas com o nível da água (REIS; ALVES 1997).

Foram transferidas cinco fêmeas adultas da mesma idade, por disco. Para cada concentração foram feitas cinco repetições, sendo que cada repetição foi representada por um disco de folha de feijão-de-porco.

Após sete dias, o número total de fêmeas adultas de *T. urticae*, assim como de seus estágios imaturos foi contabilizado. Com base nesta contagem, a taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), que estima o crescimento de uma população através da análise da sobrevivência e fecundidade, foi calculada. Essa taxa é definida como uma medida direta de crescimento de uma população em um determinado período de tempo (STARK; BANKS, 2003).

O valor positivo de r_i significa que a população está em crescimento, $r_i = 0$ indica que estabilidade populacional, enquanto um valor negativo de r_i indica que a população está em declínio, podendo levar a extinção. O r_i é calculado pela seguinte fórmula:

$$r_i = \ln (N_f / N_0) / \Delta t$$

Onde: N_f é o número final de ácaros (adultos e imaturos), N_0 é o número inicial de ácaros, Δt é a variação de tempo (duração do experimento = 7 dias), ou seja, o tempo de

exposição dos ácaros aos produtos (STARK; BANKS, 2003). Os dados foram submetidos à análise de regressão pelo programa SAS (SAS Institute, 2003), e as curvas de regressão foram feitas pelo Programa SigmaPlot 10 (Systat Software, 2006).

4.2.8 Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* sobre *Tetranychus urticae*

Mudas de feijão-de-porco (12 dias após a germinação/ contendo duas folhas), cultivadas em vasos de polietileno com capacidade de 5L, contendo uma mistura de solo e esterco bovino 10-10, foram pulverizadas com a CL₅₀ e CL₉₉ do extrato e do microencapsulado e água destilada (controle) utilizando-se pulverizador manual (1,5 L de capacidade) até o molhamento total das folhas, depositando-se um volume de calda de aproximadamente 26 mL/muda, foram utilizadas 20 mudas para cada tratamento. Após 2 h da aplicação e durante o período de 15 dias após aplicação (DAP) foram retirados dessas mudas, discos foliares (5,0 cm de diâmetro) e colocados em placas de Petri contendo água destilada, para evitar a fuga dos ácaros. Foram transferidas 10 fêmeas de *T. urticae*, segundo metodologia adaptada de Schlesener et al. (2013). A mortalidade foi avaliada 72 horas após o confinamento.

Os experimentos foram realizados em condições de casa de vegetação, no qual foi verificada com o auxílio de um termohigrômetro as condições de temperatura e umidade relativa do ar. E em condições de campo, em dois períodos: 14/03/17 a 29/03/17 e 30/11/17 a 15/12/17. Os dados meteorológicos foram disponibilizados pela Estação Agrometeorológica do CECA-UFAL, Rio Largo - AL.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, aplicando o esquema fatorial (5x16) no programa Assisat 7.7 pt (SILVA; AZEVEDO, 2017

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Concentrações letais do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* sobre fêmeas *Tetranychus urticae*

Tabela 10 - Concentrações letais (CL) (g/L) do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa* e do microencapsulado utilizadas para avaliar os efeitos subletais

Tratamento	n ^a	GL ^b	Inclinação ± EP ^c	CL ₅ (IC 95%)	CL ₂₅ (IC 95%)	CL ₅₀ (IC 95%)	CL ₇₅ (IC 95%)	CL ₉₀ (IC 95%)	CL ₉₅ (IC 95%)	CL ₉₉ (IC 95%)	χ^2 ^d
Extrato hexânico	360			0,18	0,60	1,41	3,28	7,03	11,08	26,05	
Microencapsulado	360			1,19	2,90	5,37	9,96	17,38	24,24	45,26	

^aNúmero de ácaros utilizados em cada experimento.

^b Grau de liberdade do qui-quadrado

^c Erro Padrão

^d Razão de toxicidade entre os extratos = maior CL₅₀ e CL₉₉/menor CL₅₀ e CL₉₉ dos demais

^e Qui-quadrado

Fonte: Autora, 2018.

As concentrações letais estimadas do extrato hexânico da semente de *A. squamosa* e do microencapsulado (Tab.10), foram utilizadas para a avaliação dos efeitos subletais referentes ao efeito ovicida, efeito repelente, taxa instantânea de crescimento populacional e efeito residual.

4.3.2 Toxicidade do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* sobre ovos de *Tetranychus urticae*.

A viabilidade dos ovos de *T. urticae* foi afetada, após a aplicação do extrato hexânico de *A. squamosa* e do microencapsulado de *A. squamosa*. Houve diferença significativa em relação aos tratamentos (CV% = 32,26; F = 90,59; p < 0,001).

O extrato na CL₅₀ e o microencapsulado na CL₅₀ apresentaram viabilidade de ovos semelhantes estatisticamente com 72,5 ± 4,34 % e 71,0 ± 5,07 % de ovos viáveis, respectivamente (Tab. 11).

Tabela 11 - Viabilidade de ovos de *Tetranychus urticae* submetidos ao extrato hexânico da semente de *Annona squamosa* e ao microencapsulado de *Annona squamosa*

Tratamentos	Média ± erro padrão
Testemunha	99,0 ± 0,68 a
Extrato CL ₅₀	72,5 ± 4,34 b
Extrato CL ₉₉	24,5 ± 5,10 c
Microencapsulado CL ₅₀	71,0 ± 5,07 b
Microencapsulado CL ₉₉	7,5 ± 2,70 d

Fonte: Autora, 2018.

O tratamento com microencapsulado na CL₉₉ teve a menor viabilidade com 7,5 ± 2,70 % de ovos viáveis, seguido pelo tratamento do extrato hexânico na CL₉₉, com 24,5 ± 5,10 %. Observa-se, portanto, maior efeito ovicida quando utilizado o microencapsulado (Tab. 11).

Levando em consideração, que as concentrações letais (CLs) utilizadas foram as estimadas para a fase adulta do ácaro rajado e observando que quando utilizada a CL₅₀ (concentração letal capaz de causar mortalidade de 50% dos ácaros adultos) houve viabilidade de ovos maior que 50% e quando utilizada as CL₉₉ (concentração letal capaz de causar mortalidade de 99 % dos ácaros adultos) ainda houve viabilidade de ovos de 24,5 %. Pode-se explicar que isto ocorreu, provavelmente, porque para os ovos o modo de ação foi de contato e para os adultos foi contato + ingestão. Além disso, vale ressaltar que os ovos apresentam o córion, estrutura que serve para proporcionar a respiração do embrião, mas que também protege de condições externas.

Segundo Gonçalves et al. (2001), os embriões podem morrer devido a penetração e toxicidade dos compostos bioativos no interior dos ovos, pois os estigmas embrionários são

conectados ao córion e se ligam a uma região especializada da membrana intermediária, a qual é dotada de perfurações, que são prováveis locais de trocas gasosas com o ambiente.

Outros autores, também observaram que após a aplicação da CL₉₉ (12,07 mg/ mL), estimada para fêmeas de ácaro da mesma espécie em estudo, do extrato etanólico de sementes de *A. muricata*, apenas $9,5 \pm 2,8$ % dos ovos de *T. urticae* foram viáveis (MACIEL et al., 2015).

Pavela et al. (2017), estimaram as CLs do extrato de raiz de *S. officinalis* L. e das nanopartículas *S. officinalis* fabricadas com prata, para ovos de *T. urticae*, e obtiveram CL₅₀ de 3,1 e 13,8 g L⁻¹ para as nanopartículas e extrato, respectivamente. E CL₉₀ de 13,1 e 18,8 g L⁻¹, para nanopartículas e extrato, respectivamente.

Outros produtos naturais à base de plantas da família Myrtaceae, Meliaceae, Poaceae, Asteraceae e Costaceae também ocasionaram baixa viabilidade de ovos, evidenciando que acaricidas naturais são eficientes no controle de ovos de *T. urticae* (YANAR; KADIOĞLU; GÖKÇE 2011; ATTIA et al., 2012; MACIEL et al., 2015; ISMAIL, 2017).

É interessante ressaltar que o ácaro rajado possui alto potencial reprodutivo, uma fêmea pode ovipositar em média 10 ovos por dia (ZHANG, 2003). Desta forma, o uso de produtos que controlam o estágio inicial de uma praga é uma propriedade relevante a se considerar, pois retarda o aumento da população, diminuindo ou inviabilizando a eclosão de larvas, conseqüentemente reduz as injúrias causadas pela praga (ESTEVES FILHO; OLIVEIRA; GONDIM JÚNIOR, 2008).

4.3.3 Efeito repelente do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* a *Tetranychus urticae*

As concentrações testadas referentes às CLs 5, 25, 50, 75 e 90 do extrato hexânico de *A. squamosa* apresentaram efeito neutro ao ácaro *T. urticae*, ou seja, a média do IR dos referidos tratamentos, encontra-se entre $1 - DP$ e $1 + DP$, de acordo com Kogan e Goeden (1970). Assim como, as CLs 5 e 25 do microencapsulado de *A. squamosa* e o Branco (micropartículas apenas com os materiais de revestimento, na concentração equivalente a CL₅₀ do microencapsulado) (Tab. 12)

O efeito repelente do extrato hexânico a *T. urticae* foi observado somente a partir da CL₉₅. Para o microencapsulado o efeito repelente ocorreu a partir da CL₅₀, ou seja, a média do IR dos referidos tratamentos é menor que $1 - DP$, de acordo com Kogan e Goeden (1970) (Tab. 12).

Tabela 12 - Efeito repelente do extrato hexânico da semente de *Annona squamosa* e do microencapsulado de *Annona squamosa* a *Tetranychus urticae*

Tratamentos	Concentração	Média (\pm DP ^a) dos Índice de Repelência ^b	Efeito
Branco ^c	5 g/L	0,97 \pm 0,38	Neutro
Extrato hexânico	CL ₅	0,97 \pm 0,24	Neutro
	CL ₂₅	1,24 \pm 0,35	Neutro
	CL ₅₀	0,88 \pm 0,48	Neutro
	CL ₇₅	0,81 \pm 0,28	Neutro
	CL ₉₀	0,90 \pm 0,31	Neutro
	CL ₉₅	0,59 \pm 0,34	Repelente
	CL ₉₉	0,21 \pm 0,17	Repelente
Microencapsulado	CL ₅	1,24 \pm 0,34	Neutro
	CL ₂₅	0,82 \pm 0,43	Neutro
	CL ₅₀	0,57 \pm 0,41	Repelente
	CL ₇₅	0,41 \pm 0,32	Repelente
	CL ₉₀	0,41 \pm 0,30	Repelente
	CL ₉₉	0,21 \pm 0,19	Repelente

^aDesvio Padrão; ^b Índice de Repelência calculado de acordo com a fórmula descrita por Kogan & Goeden (1970).

^cMicroencapsulado sem o extrato.

Fonte: Autora, 2018.

O Branco refere-se ao microencapsulado produzido sem o extrato, e a concentração utilizada foi equivalente à CL₅₀, menor concentração que teve IR com efeito repelente. Comprovando, portanto que a repelência foi causada pelo material ativo e não por seu material de revestimento.

Embora, o microencapsulado tenha na sua composição apenas 50 % de extrato hexânico e esse material ativo encontra-se no interior da micropartícula, esse fato, não teve consequências negativas. Ocorrendo efeito repelente a partir da CL₅₀ do microencapsulado (5,37 g/L) diferente do extrato hexânico, o qual teve efeito repelente a partir da CL₉₅ (11,08 g/L), provavelmente o material de revestimento ajudou a manter o efeito, protegendo-o e evitando, por exemplo, que ocorresse a evaporação de forma rápida.

Resultados semelhantes foram observados, quando aplicado extrato etanólico de *A. muricata*, atividade repelente foi a partir da CL_{75} (3,10 mg/mL) sobre o mesmo ácaro-praga (MACIEL et al., 2015).

A ação de repelência também foi constatada para o óleo de nim (Nim-I-Go[®]) em *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Tenuipalpidae), nas primeiras 24 horas após a infestação dos ácaros, nas concentrações 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 % de v/v (JUSTINIANO et al., 2009).

Os extratos aquosos de folhas de *Croton blanchetianus* (Baill) (Euphorbiaceae), *Myracrodruon urundeuva* (Allemão) (Anacardiaceae) *Ziziphus joazeiro* (Mart) (Rhamnaceae) nas concentrações de 15, 20 e 25 % tiveram efeito repelente para o ácaro verde da mandioca *Mononychellus tanajoa* (Bondar, 1938) (Tetranychidae) (SIQUEIRA et al., 2014).

Os óleos essenciais das sementes de *Cuminum cyminum* (Cumin) (Apiaceae), de flores de *Syzygium aromaticum* (Clove) (Myrtaceae), e de folhas de *Mentha spicata* (Spearmint) (Lamiaceae), foram repelentes ao ácaro *T. urticae* nas concentrações 2,46; 2,69 e 4,52 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, respectivamente (KHERADMAND et al., 2015).

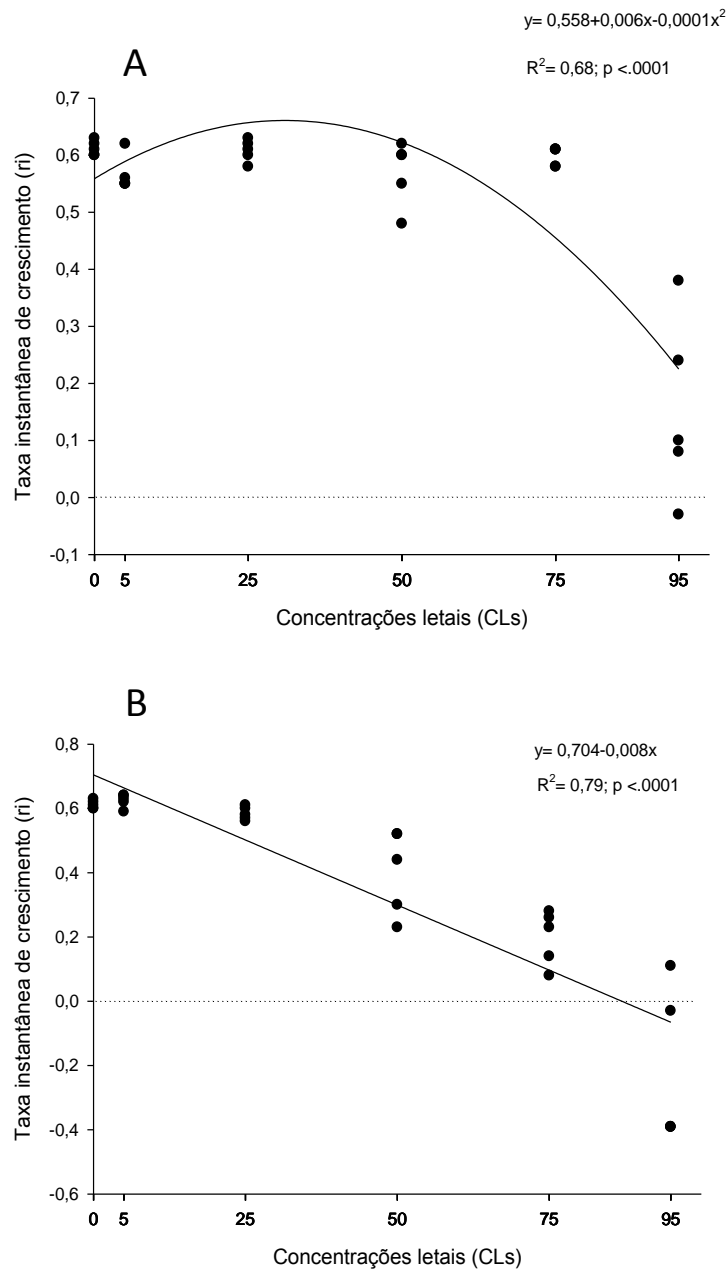
O extrato etanólico de *Chenopodium quinoa* Willd. (Chenopodiaceae) também causou repelência ao *T. urticae*. Após 24 h as três concentrações testadas (2, 3 e 4 %) foram extremamente repelentes com porcentagens de 96, 99 e 100 %, respectivamente (HARDER; TELLO; GILIOMEE, 2016).

O efeito repelente do extrato hexânico e do microencapsulado de *A. squamosa* é considerado uma adição ao controle do ácaro *T. urticae*, pois mesmo em concentrações abaixo daquela capaz de causar 99 % de mortalidade na população do ácaro, o produto pode causar repelência em populações que possam ter sobrevivido ao seu efeito letal ou evitar infestação.

4.3.4 Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de *Tetranychus urticae*

As taxas instantâneas de crescimento populacional diminuíram com o aumento da concentração tanto para o extrato hexânico, quanto para o microencapsulado de *A. squamosa*. Apesar do decréscimo, nenhuma concentração testada do extrato hexânico de *A. squamosa* foi capaz de estabilizar a população de *T. urticae* ($r_i = 0$). Populações expostas às CLs 5, 25, 50, 75 e 95, tiveram valores positivos de r_i , iguais a $0,56 \pm 0,01$; $0,60 \pm 0,00$; $0,57 \pm 0,02$; $0,59 \pm 0,00$ e $0,15 \pm 0,07$ respectivamente (Fig. 12A).

Figura 12 - Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de *Tetranychus urticae* expostos a concentrações do extrato hexânico de *Annona squamosa* (A) e do microencapsulado de *Annona squamosa* (B)



As populações de *T. urticae* expostas às CLs 5, 25, 50, 75 do microencapsulado de *A. squamosa*, também tiveram valores positivos de r_i , iguais a $0,62 \pm 0,00$; $0,58 \pm 0,00$; $0,40 \pm 0,05$ e $0,19 \pm 0,04$, respectivamente. No entanto, para a concentração referente a CL₉₅, o valor de r_i foi negativo igual a $-0,21 \pm 0,10$ indicando declínio da população com tendência a supressão dos ácaros (Fig. 12B).

O declínio populacional causado pelo uso de acaricidas pode ser ocasionado devido não somente a mortalidade dos ácaros, mas também a uma diminuição da alimentação, que acarreta,

provavelmente, redução na sua fecundidade ou interferência no período de protoninfa a adulto (PONTES, 2006).

Outros autores ao estudarem extratos hidroalcoólicos de pimenta malagueta e coentro, observaram que a taxa instantânea de crescimento populacional para os ácaros *T. urticae* e *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Tarsonemidae) decresceu linearmente com o aumento das concentrações dos extratos. O extrato de calêdula afetou apenas o *T. urticae* (OLIVEIRA, 2013).

A taxa instantânea de crescimento populacional do ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) diminuiu com o aumento da toxicidade dos extratos de nim. Houve diminuição linear das curvas dos extratos de óleo de torta, sementes e folhas até as concentrações de 0,075; 15,0 e 144,0 mg/mL, respectivamente, a partir das quais as populações de *O. ilicis* foram extintas (MOURÃO, et al., 2004)

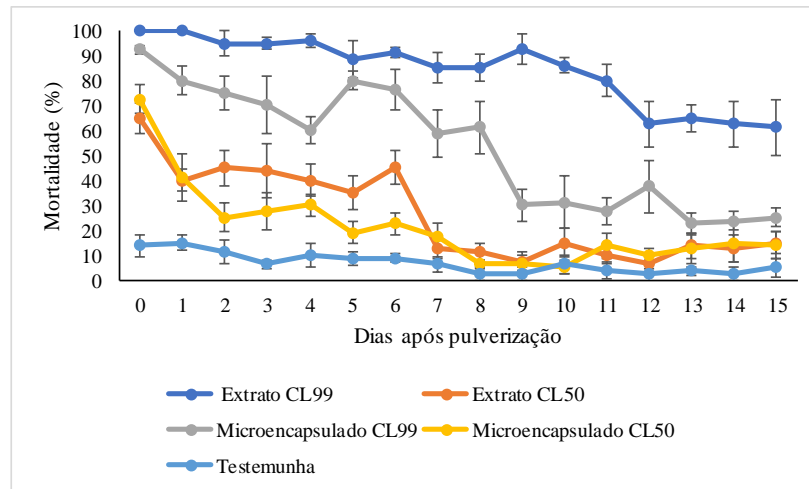
O crescimento populacional de *M. tanajoa* em discos de folhas de mandioca foi afetado pelos extratos aquosos de *C. blanchetianus*, *M. urundeuva* e *Z. joazeiro* em todas as concentrações testadas (1, 5, 10, 15, 20 e 25 %), que proporcionaram declino populacional (SIQUEIRA et al., 2014).

4.3.5 Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* sobre *Tetranychus urticae*

No experimento realizado em casa de vegetação, houve diferença significativa na interação tratamentos e dias após pulverização (DAP) a 5 % de probabilidade ($F = 3,41$; $p < 0,001$) pelo teste de Tukey. Foi constatada temperatura de 32 ± 1 °C e 42 ± 3 % de umidade relativa, durante a condução do experimento.

Do dia “zero” (1 h após a pulverização) até o 2° DAP, o microencapsulado e o extrato hexânico, ambos na CL₉₉, foram semelhantes entre si. O microencapsulado na CL₉₉ causou mortalidade de $92,5 \pm 1,6$; $80,0 \pm 5,9$ e $75,0 \pm 7,1$ %, no dia “zero”, 1° DAP e 2 ° DAP, respectivamente. E para o extrato houve mortalidade de $100 \pm 0,0$; $100 \pm 0,0$ e $95,0 \pm 5,0$ %, no dia “zero”, 1° DAP e 2° DAP, respectivamente (Fig. 13).

Figura 13 - Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* (CL₅₀ e CL₉₉) sobre *Tetranychus urticae* inoculado até 15 dias após pulverização em plantas de feijão-de-porco na casa de vegetação



Considerando que um produto com boa eficiência deve causar em média 60 % de mortalidade dos ácaros (CARVALHO et al., 2008). Observou-se que o microencapsulado na CL₉₉ foi eficiente até o 8° DAP com mortalidade de $61,2 \pm 10,4$ %. E o extrato hexânico na CL₉₉ foi eficiente até o 15° DAP com mortalidade de $61,2 \pm 11,0$ % (Fig. 13).

A CL₅₀ do microencapsulado e do extrato hexânico foram semelhantes entre si, durante praticamente todo o período de avaliação do experimento, a mortalidade para o microencapsulado foi de $72,5 \pm 5,9$ % e para o extrato de $65,0 \pm 6,0$ %, no dia “zero”. A partir do 7° DAP não diferiram da testemunha, indicando perda da eficiência (Fig. 13).

Os percentuais de mortalidade no 15° DAP, não tiveram diferença significativa para o microencapsulado na CL₉₉ e CL₅₀, extrato hexânico na CL₅₀ e testemunha, com valores iguais a $25,0 \pm 3,7$; $13,75 \pm 5,3$; $15,0 \pm 4,2$ e $5,0 \pm 3,7$ %, respectivamente (Fig. 13).

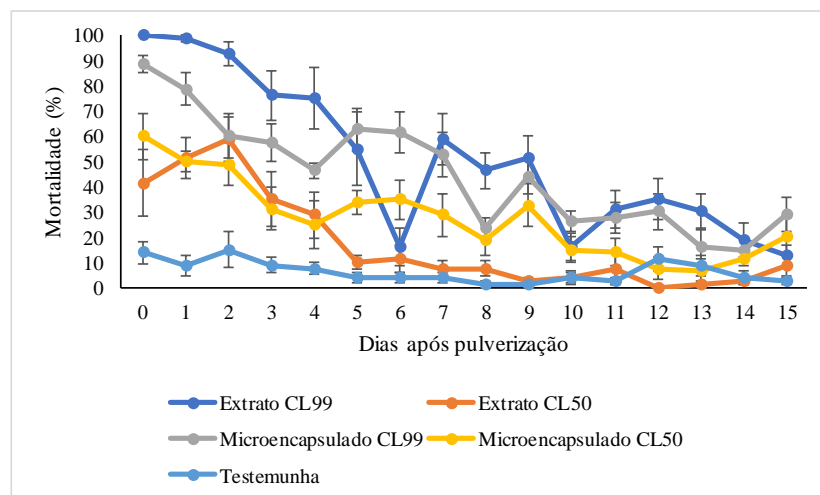
Observa-se maior estabilidade do extrato hexânico em comparação ao microencapsulado, isso pode ter ocorrido devido a baixa umidade apresentada na casa de vegetação (42 ± 3 % UR) visto que o microencapsulado apresenta gelatina na sua formulação e a umidade ajudaria na liberação do extrato que está localizado no interior da partícula do microencapsulado.

No experimento de campo 1, houve diferença significativa na interação tratamentos e dias após pulverização (DAP) a 5 % de probabilidade ($F = 3,82$; $p < 0,001$) pelo teste de Tukey (Fig. 14).

Segundos dados obtidos pela Estação Agrometeorológica do CECA-UFAL, durante o período do experimento de campo 1 (período chuvoso), houve uma radiação solar de $22,3 \pm 1$ MJ m⁻², temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e 69 ± 4 % de umidade relativa.

No dia “zero” e no 1° DAP, o microencapsulado e o extrato hexânico, ambos na CL₉₉, foram semelhantes entre si e tiveram maior percentual de mortalidade de *T. urticae*, diferindo dos demais tratamentos, com valores de $88,75 \pm 3,5$ e $78,75 \pm 6,4$ % de mortalidade, no dia “zero” e no 1° DAP, respectivamente para o microencapsulado e de $100 \pm 0,0$ e $98,7 \pm 1,2$ %, no dia “zero” e no 1° DAP, respectivamente para o extrato hexânico (Fig. 14).

Figura 14 - Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* (CL₅₀ e CL₉₉) sobre *Tetranychus urticae* inoculado até 15 dias após pulverização em plantas de feijão-de-porco no campo, experimento 1



No 2°, 3° e 4° DAP houve índice de precipitação pluvial igual a 6,1; 2,0 e 1,5 mm, com ocorrência das chuvas no período da tarde. Considerando que a montagem do experimento foi realizada no período da manhã, esse fato fez com que no 3° DAP ocorresse uma queda no percentual de mortalidade, o que se deu provavelmente com a “lavagem” das folhas, diminuindo a quantidade dos produtos e conseqüentemente, o seu efeito sobre os ácaros. Assim a mortalidade se manteve estatisticamente igual para cada tratamento, até o 2° DAP, diminuindo a partir daí.

Os tratamentos do extrato hexânico e do microencapsulado, ambos na CL₅₀, tiveram eficiência até o 3° DAP, sendo semelhantes entre si no dia “zero”, 1°, 2° e 3° DAP, com valores de $41,2 \pm 13,3$; $51,2 \pm 7,9$; $58,7 \pm 9,0$ % de mortalidade, respectivamente, para o extrato

hexânico, e de $60 \pm 9,1$; $50 \pm 4,2$ e $48,7 \pm 8,5$ %, respectivamente, para o microencapsulado (Fig. 14).

No tratamento do extrato hexânico na CL₉₉ no 6° DAP, é observado uma queda de mortalidade com valor de $16,2 \pm 7,3$ % e em seguida aumento da mortalidade, esse fato pode ter ocorrido devido as condições de campo à qual as plantas estavam e devido a precipitação que ocorreu nos dias anteriores, podendo ter levado a seleção de uma folha que já estava bem “limpa”, com pouca quantidade do produto, pois no dia seguinte (7° DAP), o percentual de mortalidade se manteve novamente, igual a $58,7 \pm 10,2$ % (Fig. 14).

Observou-se que o microencapsulado na CL₉₉ foi eficiente até o 6° DAP com mortalidade de $61,2 \pm 8,1$ %. E o extrato hexânico na CL₉₉ foi eficiente até o 7° DAP com mortalidade de $58,7 \pm 10,3$ %. (Fig. 14).

O maior índice de precipitação pluvial foi no 8° DAP, com 20,1 mm, no entanto, para o microencapsulado na CL₉₉ e CL₅₀ observou-se um pequeno aumento da mortalidade no 9° DAP, esse fato pode ter ocorrido por algum fator externo, como por exemplo, referente a biologia dos ácaros selecionados, visto que a tendência do percentual de mortalidade foi mantida chegando no 15° DAP, com mortalidade de $28,7 \pm 6,9$; $20,0 \pm 7,3$ e $2,5 \pm 1,6$ %, para o microencapsulado na CL₉₉, na CL₅₀ e testemunha, respectivamente.

A partir do 10° DAP todos os tratamentos tiveram valores de mortalidade baixos, com a maioria dos dias de avaliações sem diferença significativa, chegando ao 15° DAP, com valores semelhantes, iguais a $28,75 \pm 6,9$; $20,0 \pm 7,3$; $12,5 \pm 4,5$; $8,7 \pm 4,0$ e $2,5 \pm 1,6$ %, para o microencapsulado na CL₉₉, microencapsulado na CL₅₀, extrato na CL₉₉, extrato na CL₅₀ e testemunha, respectivamente.

Os maiores valores da radiação solar foram no 6° DAP e 13° DAP, com 26,1 e 26,3 MJ m⁻², respectivamente. A fotodegradação é um fator que causa a diminuição da persistência do produto. Ainda que, o experimento de campo 1 foi realizado em período chuvoso, a radiação solar nesse período causou degradação do produto ao longo do tempo.

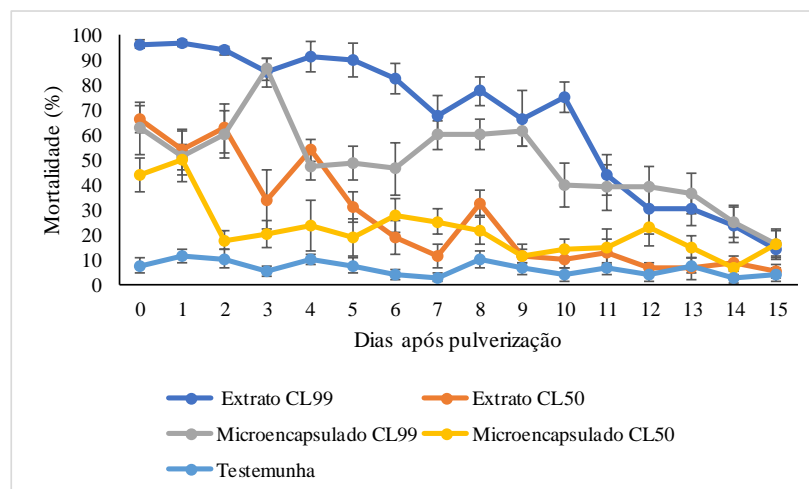
No experimento de campo 2, houve diferença significativa na interação tratamentos e dias após pulverização (DAP) a 5 % de probabilidade ($F = 5,03$; $p < 0,001$) pelo teste de Tukey (Fig. 15).

Segundos dados obtidos pela Estação Agrometeorológica do CECA-UFAL, durante o período do experimento de campo 2 (período seco), houve uma radiação solar de $22,7 \pm 1$ MJ m⁻², temperatura de 27 ± 1 °C e 67 ± 4 % de umidade relativa.

O tratamento do extrato hexânico na CL₉₉ diferiu dos demais tratamentos e teve maior percentual de mortalidade, até o 2° DAP, com valores de $96,2 \pm 1,8$; $96,7 \pm 1,2$ e $93,7 \pm 1,8\%$, para o dia “zero”, 1° DAP e 2° DAP, respectivamente (Fig. 15).

Os tratamentos do microencapsulado na CL₉₉ e CL₅₀ e o extrato hexânico na CL₅₀ não tiveram diferença significativa até o 1° DAP, com médias de $62,5 \pm 10,8$; $43,5 \pm 6,8$ e $66,2 \pm 5,6\%$ de mortalidade no dia “zero”, respectivamente. E no 1° DAP tiveram médias de $51,2 \pm 9,9$; $50 \pm 6,3$; $53,7 \pm 8,2\%$ de mortalidade para o do microencapsulado na CL₉₉ e CL₅₀ e o extrato hexânico na CL₅₀, respectivamente (Fig. 15).

Figura 15 - Efeito residual do extrato hexânico e do microencapsulado de *Annona squamosa* (CL₅₀ e CL₉₉) sobre *Tetranychus urticae* inoculado até 15 dias após pulverização em plantas de feijão-de-porco no campo, experimento 2



O tratamento do microencapsulado na CL₉₉ do 3° DAP, teve um pico maior do que os demais DAP, com $86,2 \pm 4,6\%$ de mortalidade, esse fato pode ter ocorrido por algum fator externo, como por exemplo, a idade dos ácaros selecionados. Observando em seguida a diminuição da mortalidade com o aumento dos dias após a pulverização (Fig. 15).

O extrato hexânico na CL₉₉, teve eficiência até o 10° DAP, com $75,0 \pm 6,0\%$ de mortalidade. Para o microencapsulado ocorreu eficiência até 9° DAP com $61,2 \pm 6,1\%$ de mortalidade. No entanto, observou-se do 4° ao 6° DAP médias menores que 60%, o que pode ter ocorrido por seleção de folhas com pouca concentração do produto (Fig. 15).

No 14° e 15° DAP os tratamentos não tiveram diferença significativa entre si, com médias iguais a $16,25 \pm 5,0$; $16,25 \pm 5,6$; $13,75 \pm 3,7$; $5,0 \pm 2,7$; $3,75 \pm 2,6\%$ de mortalidade no

15° DAP, para o microencapsulado na CL₉₉, microencapsulado na CL₅₀, o extrato hexânico na CL₉₉, extrato hexânico na CL₅₀ e a testemunha, respectivamente (Fig. 15).

Durante o período do experimento em campo 2 ocorreu precipitação apenas no 3° DAP, no valor de 1,78 mm, o que provavelmente não interferiu nos resultados.

Os maiores valores da radiação solar foram no 6° DAP e 14° DAP, com 27,9 e 27,4 MJ m⁻², respectivamente. Esses valores foram maiores do que no experimento de campo 1, justamente por ter sido realizado no período seco, em que os dias apresentam maior radiação, embora a média da radiação solar do período tenha sido igual para ambos.

Observou-se maior tempo do efeito residual dos produtos para o ácaro rajado no experimento de campo 2, provavelmente pelo menor índice de precipitação em comparação ao experimento de campo 1.

Observou-se também no presente estudo, que o percentual de mortalidade foi maior no experimento realizado em casa de vegetação, do que aqueles realizados em campo. De acordo com Irulandi et al. (2008), resultados discrepantes relacionados a estudos laboratoriais ou de ambiente protegido e de campo, podem ser explicados pela ação da radiação solar sobre os produtos levando a fotodegradação. Além do fator umidade relativa do ar e precipitação.

Outros trabalhos com extratos de folhas de *A. squamosa*, *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) e *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) na concentração 11200 ppm, tiveram mortalidade até no décimo dia após a pulverização, notando-se que a maior porcentagem foi encontrada para a *A. squamosa*, chegando a 90% de mortalidade do ácaro *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Tetranychidae). O percentual de mortalidade provavelmente foi maior do que o do presente estudo, pois o ácaro foi transferido para discos de folhas tratados, apenas no primeiro dia de pulverização e as avaliações foram feitas por dez dias consecutivos, além disso, trata-se de outra espécie de ácaro, embora pertença a mesma família do ácaro *T. urticae* (CARVALHO et al., 2008).

Resultado semelhante foi observado em um experimento realizado em casa de vegetação com o extrato etanólico de semente de *A. muricata*, que pertence a mesma família da planta do presente estudo, o qual teve percentual de mortalidade constante até o quinto dia após a pulverização com 92% de mortalidade também para o ácaro rajado (MACIEL et al., 2015).

Schlesener et al. (2013), observaram em estudos de efeito residual, mas neste caso com produtos à base de nim que a eficiência de controle do ácaro rajado reduziu significativamente três dias após pulverização. Ao avaliarem a persistência do Azamax® e do Neemseto® ambos nas concentrações 0,5 e 1,0%, observaram que a partir de 72 h após pulverização os valores de mortalidade foram iguais ao da testemunha. Dos produtos formulados a base de plantas, aqueles

à base de nim são os mais fabricados e utilizados, no entanto, têm baixo efeito residual, sendo necessário o estudo de outros produtos à base de planta com maior persistência e que apresentem em sua formulação ingredientes não tóxicos como é o caso do microencapsulado de *A. squamosa* do presente estudo.

Devido aos malefícios causados pela utilização em larga escala de produtos químicos existe a necessidade de desenvolver novas tecnologias a fim de minimizar seus efeitos. Além disso, há crescente interesse por produtos livres de agrotóxicos, assim como a conscientização de produtores e consumidores levando-os a atitudes ecologicamente corretas. Todos estes aspectos impulsionam a busca por produtos alternativos que não agridam o ambiente, a saúde humana e que possam controlar pragas agrícolas de maneira eficaz (CORRÊA; SALGADO, 2011; KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

Sobre o uso de formulações microencapsuladas, é interessante ressaltar que a membrana ou a parede polimérica protege o princípio ativo contra diversas reações, pode controlar a taxa de liberação dos compostos e prevenir as perdas de compostos voláteis, aumentando a sua estabilidade no ambiente, evitando também a contaminação do ambiente e de agricultores. Além disso, a microencapsulação pode converter extratos líquidos em pó, que pode facilitar na manipulação e preparo da calda de aplicação no campo (RIYAJAN; SAKDAPIPANICH, 2009).

No presente estudo, o processo de microencapsulação do extrato hexânico de *A. squamosa* ajuda a proteger o princípio ativo e além disso pode diminuir a contaminação do meio ambiente, visto que o extrato hexânico é muito tóxico ao meio ambiente por ter sido utilizado o solvente hexano como agente extrator, geralmente ainda pode ficar algum resíduo do solvente, o que pode ser minimizado com esse processo. Além disso, o extrato hexânico de *A. squamosa* é muito oleoso o que dificulta a sua aplicação de forma eficiente, mesmo utilizando espalhante ou emulsificante, sendo que a solubilização do microencapsulado é completa.

4.4 Conclusões

- O extrato hexânico e o microencapsulado de *A. squamosa* causam efeitos subletais a *T. urticae*.

- O extrato hexânico e o microencapsulado de *A. squamosa*, afetam a viabilidade de ovos de *T. urticae*, têm efeito repelente, afetam a taxa instantânea de crescimento populacional, diminuindo a população da espécie e tem efeito residual eficiente sobre o ácaro *T. urticae*, quando utilizadas doses subletais.

REFERÊNCIAS

- ÁLVARES COLOM, O. et al. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Pest Science**, v. 80, p. 63-67, 2007.
- ALVES, D. S. et al. Plants Extracts as an Alternative to Control *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 1, p. 123-128, 2011.
- ATTIA, S. et al. Acaricidal activities of *Santolina africana* and *Hertia cheirifolia* essential oils against the two-spotted spidermite (*Tetranychus urticae*). **Pest Management Science**, v.68, p. 1069-1076, 2012.
- BLEICHER, E. **Manejo de pragas agrícolas com inseticidas alternativos**. Fortaleza: PET Agronomia – UFC. 2012. 34 p.
- BLISS, C. I. The method of probits. **Science**, v. 79, p. 38-39, 1934.
- CARVALHO, T. M. B. et al. Avaliação de extratos vegetais no controle de *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) em laboratório. **Coffee Science**, v. 3, n. 2, p. 94-103, 2008.
- CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 500-506, 2011.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. Thesublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, n. 1, p. 81-106, 2007.
- ESTEVES FILHO, A. B. et al. Biologia comparada e comportamento de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae) em Algodoeiro BollgardTM e Isolinha não-Transgênica. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 3, p. 338-344, 2010.
- ESTEVES FILHO, A. B.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JÚNIOR, M. G.C. Toxicidade de acaricidas sobre diferentes estágios de vida de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em Mamoeiro. **BioAssay**, v. 3, n. 6, p. 1-6, 2008.
- GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.
- GONÇALVES, M, E. C. et al. Efeito de Extratos Vegetais sobre Estágios Imaturos e Fêmeas Adultas de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 305-309, 2001.
- HARDER, M. J.; TELLO, V. E.; GILIOME, J. H. The acaricidal effect of ethanolic extracts of *Chenopodium quinoa* Willd. On *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **African Entomology**, v. 24, n. 1, p. 50-60, 2016.

- IRULANDI, S. et al. Effect of botanical insecticides on coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Biopesticides**, v. 1, n. 1, p. 70-73, 2008.
- ISMAIL, M. S. M. Extract of the Plant *Costus speciosus* as a New Acaricide for Control of the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **African Entomology**, v. 25, n. 1, p. 148-155, 2017.
- JUSTINIANO, W. et al. Eficiência do óleo de neem no controle do ácaro da leprose dos citros *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 1, p. 38-42, 2009.
- KHERADMAND, K. et al. Toxicity and Repellency Effects of Three Plant Essential Oils Against Two-spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 17, p. 1223-1232, 2015.
- KOGAN, M.; GOEDEN, R. D. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 63, p. 1175-1180, 1970.
- KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 225-242, 2014.
- MACIEL, A. G. S. et al. Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 48, p. 4370-4375, 2015.
- MARCOMINI, A. M. **Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)**. 2009. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, 2009.
- MONTEIRO, V. B. et al. Monitoring *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) resistance to abamectin in vineyards in the Lower Middle São Francisco Valley. **Crop Protection**, v. 69, p. 90-96, 2015.
- MORAES, G. J.; FLECHTMANN, C. H. W. **Manual de Acarologia**. Acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos, 2008. 308 p.
- MOURÃO, S. A. Toxicidade de extratos de nim (*Azadirachta indica*) ao ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 827-830, 2004.
- NICASTRO, R. L.; SATO, M. E.; SILVA, M. Z. da. Milbemectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin. **Experimental and Applied Acarology**, v. 50, p. 231-241, 2010.
- OLIVEIRA, J. M. **Potencial de extratos vegetais no controle de *Polyphogotarsonemus latus*, *Tetranychus urticae*, e *Mysus persicae***. 2013. 72f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2013.

- PAVELA, R. et al. Saponaria officinalis-synthesized silver nanocrystals as effective biopesticides and oviposition inhibitors against *Tetranychus urticae* Koch. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 338–344, 2017.
- PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as eco-friendly biopesticides? Challenges and constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, p. 1000-1007, 2016.
- PONTES, W. J. T. **Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais de espécies nativas de Pernambuco sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)**. 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.
- REIS P. R. et al. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 265-274, 1998.
- REIS, P. R.; ALVES, E. B. Criação do ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark Muma (Acari: Phytoseiidae) em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 565-568, 1997.
- RIYAJAN, S.; SAKDAPIPANICH, J. T. Development of a controlled release neem capsule with a sodium alginate matrix, crosslinked glutaraldehyde and coated with natural rubber. **Polymer Bulletin**, v. 63, n. 4, p. 609-622, 2009.
- SAS Institute Inc. **Statistical Analysis System user's guide**, version 9.1, Ed. Cary: Institute, USA, 2003.
- SATO, M. E. et al. Monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a abamectin e fenpyroximate em diversas culturas no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 217-223, 2009.
- SATO, M. E. et al. Toxicidade diferencial de agroquímicos a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em morangueiro. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 3, p. 449-456, 2002.
- SCHLESENER, D. C. H. et al. Efeitos do nim sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e os predadores *Phytoseiulus macropilis* (Banks) e *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 59-66, 2013.
- SILVA, A. C. B. et al. Lethal and sublethal effects of neem oil to the predatory mite *Proprioseiopsis neotropicus* (Acari: Phytoseiidae). **Revista Colombiana de Entomología** v. 39 n. 2, p. 221-225, 2013.
- SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. A. ASSISTAT, **Assistência estatística**. Versão 7.7 pt 2017.
- SIQUEIRA F. F. S. et al. Atividade acaricida de extratos aquosos de plantas de caatinga sobre o ácaro verde da mandioca. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 4, p. 109-116, 2014.

SIVIRA, A. et al. Toxicity of ethanolic extracts from *Lippia origanoides* and *Gliricidia sepium* to *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 3, p. 375-379, 2011.

SOTO, A. et al. Alternative control of *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) on tomato plants grown in greenhouses. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 4, p. 638-644, 2010.

STARK, J. D.; BANKS, J. E. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 48, p. 505-519, 2003.

SYSTAT SOFTWARE. **SigmaPlot for windows**. Version 10.0. San Jose: Systat Software, 2006.

TEODORO, A.V; PALLINI, A.; OLIVEIRA, C. Sub-lethal effects of fenbutatin oxide on prey location by the predatory mite *Iphiseiodes zuluagai*. **Experimental Applied Acarology**, v. 47, p. 293-299, 2009.

YANAR, D.; KADIOĞLU, D.; GÖKÇE, A. Ovicidal activity of different plant extracts on two-spotted-spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) (Acari: Tetranychidae). **Scientific Research and Essays**, v. 6, n. 14, p. 3041-3044, 2011.

ZHANG, Z. Q. **Mites in greenhouse**: identification, biology and control. Cambridge: CABI, 2003. 244 p.