



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**QUIMIODIVERSIDADE E BIOATIVIDADE DO ÓLEO
ESSENCIAL E EXTRATO DE FOLHAS DE *Genipa americana*
L. A *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE)**

ALEX SOUZA DE JESUS

2019



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

ALEX SOUZA DE JESUS

**QUIMIODIVERSIDADE E BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO
DE FOLHAS DE *Genipa americana* L. A *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Doutor em Ciências”.

Orientadora
Prof.^a Dr.^a Ana Veruska Cruz da Silva
Coorientador
Prof. Dr. José Guedes de Sena Filho

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Jesus, Alex Souza de

J58q

Quimiodiversidade e bioatividade do óleo essencial e extrato de folhas de *Genipa americana* L. a *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) / Alex Souza de Jesus; orientadora Ana Veruska Cruz da Silva. – São Cristóvão, SE, 2019.
30 f. : il.

Tese (doutorado em Agricultura e Biodiversidade) –Universidade Federal de Sergipe, 2019.

1. Jenipapeiro. 2. *Cocos nucifera*. 3. Bioatividade. 4. Extratos botânicos. 4. Toxicidade 5. Repelência. I. Silva, Ana Veruska Cruz da, orient. II. Título

CDU: 606:63:582.936.1

ALEX SOUZA DE JESUS

**QUIMIODIVERSIDADE E BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO
DE FOLHAS DE *Genipa americana* L. A *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Doutor em Ciências”.

APROVADA em 22 de fevereiro de 2019.

Prof. Dr. Adenir Vieira Teodoro
PPGAGRI/EMBRAPA

Prof^a. Dr^a. Ana da Silva Ledo
PPGAGRI/EMBRAPA

Prof. Dr. Leandro Eugênio Cardamone Diniz
UFLA

Prof^a. Dr^a. Shênia Santos Silva
IFAL

Prof^a. Dr^a. Ana Veruska Cruz da Silva
PPGAGRI/EMBRAPA
(Orientadora)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

*À minha família, em especial à minha mãe
Maria Helena, pelo exemplo de dedicação e
amor*
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar todas as etapas de minha vida.

À Universidade Federal de Sergipe (UFS) e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade (PPGAGRI) pela oportunidade de realização do Doutorado.

À Embrapa Tabuleiros Costeiros pelo apoio.

A minha família, em especial a Helena, Heloisa, Mercedes, Jany, Adriano, Patrick, Isaias, Jailton e Maria. Vocês são especiais, o alicerce da minha formação e o reflexo do que sou hoje.

A minha orientadora Prof^a. Dr.^a Ana Veruska Cruz da Silva, pela paciência e disponibilidade em me orientar.

Ao meu coorientador Dr. José Guedes Sena Filho pelas instruções, colaboração e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Adenir Vieira Teodoro pelas instruções e colaboração com a pesquisa.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia, Carol, Adriano, Clézia, Luiz, Amaury, agradeço imensamente a todos pelo companheirismo.

Aos colegas de curso, Leila, Alexsander, Bruna e Carlisson pela amizade e pelo compartilhamento do conhecimento.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente com o desenvolvimento desta pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 <i>Genipa americana</i> L.....	2
2.2 Diversidade química em <i>G. americana</i>	2
2.3 <i>Aceria guerreronis</i> Keifer (Acari: Eriophyidae).....	3
2.4 Compostos botânicos e o controle de ácaros praga.....	4
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
4. ARTIGO 1: Iridoides de folhas do jenipapeiro e bioatividade em <i>Aceria guerreronis</i> (Acari: Eriophyidae).....	11
Resumo.....	11
Abstract	12
4.1. Introdução	12
4.2. Material e Métodos	13
4.3. Resultados e Discussão	14
4.4. Conclusões.....	16
4.5. Referências Bibliográficas	16
5. ARTIGO 2: Quimiodiversidade do óleo essencial de folhas de <i>Genipa americana</i> (Rubiaceae) e atividade acaricida em <i>Aceria guerreronis</i> (Acari: Eriophyidae).....	19
Resumo.....	19
Abstract	20
5.1. Introdução	20
5.2. Material e Métodos	21
5.3. Resultados e Discussão	22
5.4. Conclusões.....	26
5.5. Referências Bibliográficas	26
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura		Página
1	Mortalidade média de adultos de <i>Aceria guerreronis</i> expostos por 24 h à CL ₉₀ do extrato metanólico de folhas de jenipapeiro em diferentes intervalos de tempo após a aplicação. Os asteriscos denotam diferenças estatísticas entre os tratamentos (teste t, $P < 0,05$).....	15
2	Repelência da CL ₅₀ (A) e CL ₉₀ (B) do extrato metanólico de folhas de jenipapeiro ao ácaro-da-necrose, <i>Aceria guerreronis</i> , após 1, 24 e 48 horas de pulverização. Barras pretas indicam áreas de controle não tratadas e barras brancas denotam áreas tratadas.....	16

ARTIGO 2

Figura		Página
1	Cromatograma da diferença de idade de folhas de <i>Genipa americana</i> . A: folhas maduras 24 h de extração, B: folhas jovens 24 h de extração; C: folhas maduras 48 h de extração, D: folhas jovens 48 h de extração.	24
2	Repelência da CL ₅₀ (A) e CL ₉₀ (B) do óleo essencial de folhas de <i>Genipa americana</i> ao ácaro-da-necrose, <i>Aceria guerreronis</i> , após 1, 24 e 48 horas de pulverização. Barras pretas indicam áreas de controle não tratadas e barras brancas denotam áreas tratadas.	26

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela		Página
1	Concentrações letais do extrato metanólico de folhas de jenipapeiro ao ácaro <i>Aceria guerreronis</i> baseado em bioensaios de concentração-mortalidade, após 24 horas de exposição	14

ARTIGO 2

Tabela		Página
1	Principais compostos (%) identificados no óleo essencial extraído de folhas de <i>G. americana</i> durante diferentes tempos de extração. Folhas maduras 24h (M1); Folhas jovens 24 h (J1); Folhas maduras 48 h (M2); Folhas jovens 48 h (J2); Folhas maduras 72h (M3) e folhas jovens 72h (J3).	23
2	Concentrações letais (CL ₅₀ e CL ₉₀) (mg.ml ⁻¹ com intervalo de confiança de 95% entre parênteses) do óleo essencial de <i>Genipa americana</i> sobre <i>Aceria guerreronis</i> com base em bioensaios de concentração-mortalidade, após 24 horas de exposição.	25

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas
DIC	Detector por Ionização de Chama
CL	Concentração Letal
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CC	Cromatografia em Coluna
BAG	Banco Ativo de Germoplasma
IPP	Difosfato de Isopentila
DMAPP	Difosfato de dimetilalila
EMFJ	Extrato Metanólico de Folhas de Jenipapeiro
MeOH	Metanol
IC	Intervalo de Confiança
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

RESUMO

JESUS, Alex Souza. **Quimiodiversidade e bioatividade do óleo essencial e extrato de folhas de *Genipa americana* L. a *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae).** São Cristóvão: UFS, 2019. 30p. (Tese de Doutorado em Agricultura e Biodiversidade).*

O jenipapeiro, *Genipa americana* L. (Rubiaceae), é uma espécie frutífera nativa do Brasil, com compostos bioativos, como taninos, manitol, metil-ésteres e iridoides. *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) é uma praga-chave da cultura do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), da qual o Brasil possui destaque na produção mundial. Este trabalho teve como objetivo identificar a composição química e avaliar a atividade acaricida do óleo essencial e do extrato metanólico de folhas de *G. americana* ao ácaro-da-necrose. O óleo essencial foi obtido de folhas frescas coletas no Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapo da Embrapa Tabuleiros Costeiros e submetidas a hidrodestilação. Para obtenção do extrato metanólico, folhas frescas foram maceradas em metanol durante 48 horas, o extrato foi filtrado e concentrado em rotaevaporador. A composição química qualitativa e quantitativa do óleo essencial foi analisada por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (DIC) acoplada à espectrometria de massa (CG-EM). Para os bioensaios de concentração-mortalidade, adultos do ácaro-da-necrose foram submetidos a concentrações crescentes do óleo essencial de *G. americana* e do extrato metanólico. Complementarmente à toxicidade foi avaliada a repelência por meio da liberação de ácaros no centro de uma arena com metade pulverizada e outra não pulverizada. Os principais compostos identificados no óleo essencial de folhas jovens e maduras foram: naftaleno, (E)- β -ocimeno, (2E)-decenal, (2E,4E)-decadienal, (E)-cariofileno, (E)- β -ionona, (E,E)- α -farnesene, benzoato de hexila, pentadecanal e o ácido linoleico. Verificou-se forte oxidação de ácidos graxos, aldeídos e terpenos nos tempos de extração avaliados, indicando a presença de oxidades. Nas folhas jovens houve predominância de monoterpenos, sesquiterpenos, aldeídos e ácidos graxos. Nas folhas maduras, os mesmos compostos estiveram presentes, incluindo alguns diterpenos, sugerindo a expressão da diterpeno sintase durante a senescência foliar. Os bioensaios revelaram uma forte atividade acaricida do óleo essencial ($CL_{50} = 0,41 \text{ mg.mL}^{-1}$; $CL_{90} = 6,43 \text{ mg.mL}^{-1}$) e do extrato metanólico ($CL_{50} = 0,60 \text{ mg.mL}^{-1}$ e $CL_{90} = 16,69 \text{ mg.mL}^{-1}$) ao ácaro-da-necrose. Os valores estimados de CL_{50} e da CL_{90} repeliram o ácaro-da-necrose após 24 horas de exposição, com maior percentual de repelência para o óleo essencial. O extrato metanólico apresentou baixa persistência ao ácaro-da-necrose, com atividade acaricida concentrada nas primeiras 42 horas. Conclui-se que os compostos do óleo essencial e do extrato metanólico de folhas do jenipapeiro possuem potencial para auxiliar o controle do ácaro-da-necrose em plantações de coco.

Palavras-chave: *Cocos nucifera*, jenipapeiro, bioatividade, extratos botânicos, toxicidade, repelência.

* Comitê Orientador: Prof^a. Dr^a. Ana Veruska Cruz da Silva – UFS (Orientadora), Prof. Dr. José Guedes Sena Filho – EMBRAPA (Coorientador)

ABSTRACT

JESUS, Alex Souza. **Chemodiversity and bioactivity of the essential oil and leaf extract of *Genipa americana* L. against *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae).** São Cristóvão: UFS, 2019. 30p. (Thesis Doctor of Science in Agriculture and Biodiversity).*

The *jenipapo* tree *Genipa americana* L. (Rubiaceae) is a fruit-bearing species native to Brazil, with bioactive compounds such as tannins, mannitol, methyl esters, and iridoids. *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) is a key pest of the coconut (*Cocos nucifera* L.) crop, in which Brazil has a prominent role in world production. The objective of this study was to identify the chemical composition of the essential oil and the methanolic extract of *G. americana* leaves and evaluate their acaricidal activity against the coconut mite. The essential oil was obtained from fresh leaves collected at Embrapa Coastal Tablelands Germplasm Active Bank of Jenipapo through hydrodistillation. To obtain the methanolic extract, fresh leaves were macerated in methanol for 48 hours and the extract was filtered and concentrated in a rotary evaporator. The qualitative and quantitative chemical composition of the essential oil was analyzed by gas chromatography, with flame ionization detector (FID), coupled to mass spectrometry (GC-MS). For concentration-mortality bioassays, adults of coconut mite were subjected to increasing concentrations of *G. americana* essential oil and methanolic extract. In addition to the toxicity evaluation, repellency was evaluated by releasing mites in the center of an arena with half the area sprayed and the other half unsprayed. The major compounds identified in the essential oil of young mature leaves were: naphthalene, (E)- β -ocimene, (2E)-decenal, (2E, 4E)-decadienal, (E)-cariophyllene, (E)- β -ionone, (E, E)- α -farnesene, hexyl benzoate, pentadecanal, and linoleic acid. There was strong oxidation of fatty acids, aldehydes, and terpenes at the extraction times evaluated, indicating the presence of oxidase. In the young leaves, there was a predominance of monoterpenes, sesquiterpenes, aldehydes, and fatty acids. In the mature leaves, the same compounds were present, including some diterpenes, suggesting the expression of diterpene synthase during leaf senescence. The bioassays revealed strong acaricidal activity of essential oil ($LC_{50} = 0.41 \text{ mg mL}^{-1}$, $LC_{90} = 6.43 \text{ mg mL}^{-1}$) and methanolic extract ($LC_{50} = 0.60 \text{ mg mL}^{-1}$ and $LC_{90} = 16.69 \text{ mg mL}^{-1}$) against the coconut mite. The estimated values of LC_{50} and LC_{90} repelled the coconut mite 24 hours after application, with a higher percentage of repellency for essential oil. The methanolic extract exhibited low persistence in reference to the coconut mite, with acaricidal activity concentrated in the first 42 hours. Compounds of the essential oil and the methanolic extract of jenipapo tree leaves have potential for assisting in control of coconut mite in coconut plantations.

Key-words: *Cocos nucifera*, genipap, bioactivity, botanical extracts, toxicity, repellency.

* Supervising Committee: Prof^a. Dr^a. Ana Veruska Cruz da Silva – UFS (Orientadora), Prof. Dr. José Guedes Sena Filho – EMBRAPA (Coorientador).

1. INTRODUÇÃO GERAL

A família Rubiaceae é composta por 650 gêneros e cerca de 13000 espécies encontradas mundialmente, especialmente em regiões tropicais (SILVA; CHOZE, 2013). Esta família é caracterizada pela produção de metabólitos bioativos com amplo potencial farmacológico. Na indústria cosmética, o jenipapeiro (*Genipa americana* L.) é empregado para produção de produtos para o cabelo e pele. Na alimentação humana, os frutos, ricos em ferro, vitaminas, cálcio e carboidratos, são consumidos *in natura* e na forma de doces, sucos, compotas e vinhos (MOURA; SOUZA; CONDE-JÚNIOR, 2016).

A espécie é indicada para recuperação de solos contaminados, na construção civil e naval, produção de corantes para tintura de tecidos, artefatos de cerâmica e tatuagens não permanentes (SILVA et al., 2014; MOURA; SOUZA; CONDE-JÚNIOR, 2016). Dentre os compostos ativos destacam-se os iridoides (ácido genípico, genipínico, ácido geniposídico, geniposídeo e genipina), esteroides, fitoesteróis, alcaloides, ácidos carboxílicos, flavonoides e compostos fenólicos com diversas propriedades biológicas descritas (BENTES; MERCADANTE, 2014).

A maioria dos relatos sobre fitoquímicos e compostos bioativos isolados de folhas, frutos e sementes de jenipapeiro, são voltados para a elucidação da estrutura dos iridoides, principal grupo de compostos estudados para a espécie até o presente momento. Os iridoides são responsáveis pela defesa do vegetal contra pragas, além de possuírem diversas propriedades farmacológicas (VILLASEÑOR, 2007).

O ácaro-da-necrose, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), é considerado uma das mais sérias pragas da cultura do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) na África, Ásia e América. As colônias destes eriofídeos localizam-se abaixo das brácteas no perianto dos frutos e sua alimentação causa manchas branco-amareladas que tornam-se necróticas, frequentemente causando abortamento dos frutos (MOORE; HOWARD, 1996). Após a rápida expansão das colônias pelo perianto, os ácaros migram para frutos mais novos da mesma planta ou para plantas vizinhas, passando de uma inflorescência para outra (MOORE; ALEXANDER, 1987). O ácaro-da-necrose causa perdas significativas em todas as regiões produtoras do mundo, promovendo a depreciação dos frutos e perda do valor comercial (NAVIA et al., 2013).

O controle deste eriofídeo com o uso de agrotóxicos torna-se insustentável na medida em que são necessárias aplicações frequentes, além de ser prejudicial aos inimigos naturais (NAVIA et al., 2013). Com relação ao controle biológico, os ácaros da família Phytoseiidae são os agentes mais eficazes devido ao baixo requerimento alimentar, rápido desenvolvimento, alta habilidade de forrageamento, persistência em plantas com baixa infestação de presas e pela capacidade de sobrevivência em substratos alternativos (GALVÃO et al., 2007).

Extratos botânicos com atividade acaricida em substituição aos sintéticos têm sido adotados na agricultura porque geralmente são biodegradáveis e potencialmente sustentáveis para uso em programas de manejo integrado, como agentes de controle de pragas (MIRESMAILLI; ISMAN, 2014; DEHGHANI-SAMANI et al., 2015). Adicionalmente, produtos naturais de origem vegetal também podem apresentar efeitos subletais (repelência, antialimentar) e inibir a reprodução de inimigos naturais.

Diante do exposto, torna-se necessário a investigação de metabólitos secundários componentes do óleo essencial e de extratos das folhas de acessos que compõem o Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapo (BAG Jenipapo), o que fornecerá dados para caracterização do germoplasma disponível e servir de base para produção de compostos bioativos com potencial agroindustrial e farmacológico.

O presente trabalho teve como objetivos: (i) Avaliar a toxicidade, repelência e persistência do extrato metanólico das folhas de *G. americana* e de seus iridoides majoritários sobre *A. guerreronis* e (ii) identificar a composição dos compostos voláteis de folhas jovens e maduras de *G. americana*, bem como analisar a oxidação dos terpenoides ao longo do tempo e avaliar a atividade acaricida dos óleos essenciais frente ao *A. guerreronis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Genipa americana* L.

O jenipapeiro, *Genipa americana* L. (Rubiaceae), é uma espécie amplamente distribuída nas Américas Central e do Sul, incluindo os biomas Cerrado e Amazônia (PACHECO et al., 2014; BAILÃO et al., 2015; SÁ et al., 2015). É uma espécie nativa da flora brasileira, com importância medicinal largamente empregada para tratamento de enfermidades (SILVA et al., 2014).

O gênero *Genipa* é composto por duas espécies, *G. americana* L. e *G. infundibuliformis* Zappi & Semir (SILVA et al., 2014). São árvores de médio porte, variando de 8 a 14 m de altura; o tronco é cilíndrico, reto, com casca lisa, espessa, cinzento-esverdeada com manchas de cor cinza mais claras; folhas simples, lisas, opostas, pecioladas, medindo entre 18-35 cm de comprimento e 3-17 cm de largura; as flores jovens são brancas e as maduras amareladas, agrupadas em inflorescências subcimosas, terminais ou subterminais; os frutos são arredondados, de coloração acinzentada ou marrom e tamanho médio de 12 cm de comprimento (Figura 1) (SOUSA; BAUTISTA; JARDIM, 2013; SILVA; LEDO; MELO, 2018).



Figura 1. Árvore de *Genipa americana* do Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapo da Embrapa (A), detalhes das folhas e flor (B), e dos frutos (C). Fonte: Acervo pessoal.

Dentre alguns usos, destacam-se o cultivo extrativista, a exploração comercial e a restauração de áreas degradadas (SILVA et al., 2014). Os frutos verdes produzem um pigmento azul, utilizado em tatuagens e produção de corantes, enquanto os frutos maduros são de coloração marrom e carnosos, comercializados nas feiras livres e mercados atacadistas (HANSEN et al., 2008).

Atualmente, o extrativismo e a comercialização dos frutos vem contribuindo para renda familiar de populações rurais e ribeirinhas (SILVA; LEDO; MELO, 2018). Dificilmente são consumidos *in natura*, sendo mais apropriados para o cozimento ou outras formas de processamento para produção de doces, geleias e licores (SILVA; LEDO; MELO, 2018).

O endocarpo e o fruto inteiro possuem o maior conteúdo de genipina, enquanto o mesocarpo e a casca possuem o maior conteúdo de geniposídeos (NÁTHIA-NEVES et al., 2017). O valor nutritivo dos frutos é atribuído ao conteúdo lipídico e o potencial alimentar foi comprovado em estudos de análise do perfil dos ácidos graxos (COSTA et al., 2011). Apresentam capacidade antioxidante e ricos em carboidratos, fibra alimentar, vitamina C e compostos fenólicos (CONCEIÇÃO et al., 2011; CORDEIRO; FÉLIX, 2014; PACHECO et al., 2014). A polpa do jenipapo possui composição de ácidos graxos saturados (25,63%), monoinsaturados (3,67%), poli-insaturados (61,19%) e a razão n-6/n-3 (2,01%), considerada desejável (COSTA et al., 2011). Assim, a inclusão na dieta humana pode contribuir para a segurança alimentar e nutricional da população (PACHECO et al., 2014).

2.2 Diversidade química em *G. americana*

A maioria dos relatos sobre fitoquímicos e compostos bioativos isolados de folhas, frutos e sementes de *G. americana*, é voltada para a elucidação da estrutura dos iridoides, principal grupo de compostos estudados para esta espécie. Além dos iridoides, flavonoides,

alcaloides, ácidos carboxílicos, monoterpenos e fitoesteróis obtidos de frutos e sementes do jenipapeiro têm sido isolados e testados para atividades biológicas.

Os primeiros estudos de caracterização, isolamento e elucidação estrutural dos compostos bioativos do jenipapeiro foram com a descrição da genipina, importante iridoide (DJERASSI; GRAY; KINCL, 1960; DJERASSI; BUDZIKIEWICZ; WILSON, 1961). Genipina é uma substância polar e incolor que reage espontaneamente com as aminas primárias de aminoácidos, peptídeos ou proteínas na presença de oxigênio para formar pigmentos azuis (DJERASSI; GRAY; KINCL, 1960; RAMOS-DE-LA-PEÑA et al., 2016). A genipina é um produto de alto valor agregado que tem um grande potencial para sua aplicação em diferentes campos, como na medicina e na indústria de alimentos (RAMOS-DE-LA-PEÑA et al., 2016). Tallent (1964) isolou o ácido genípico e genipínico, obtidos dos extratos dos frutos. O ácido geniposídico foi o iridoide glicosilado isolado do extrato metanólico de folhas de *G. americana* (GUARMACCIA et al., 1972). Com o isolamento do geniposídeo, obteve-se o tarenosídeo, o gardenosídeo e o ácido geniposídico através da formação de calos e de cultura de células suspensas (UEDA; IWAHASHI, 1991). O geniposídeo (iridoide natural e majoritário no jenipapo) é metabolizado em ácido geniposídico por esterases (VILLASEÑOR, 2007) e é o principal composto em ambas as partes de frutos verdes, representando mais de 70% do total de iridoides (BENTES; MERCADANTE, 2014).

A fração volátil dos frutos de jenipapo possui elevadas quantidades de ácidos carboxílicos (butírico, 2-metilbutírico e hexanóico) e 2- e 3-butanoato de metila, os quais provavelmente estão relacionados ao odor forte e primário característico (BORGES; REZENDE, 2000). Ono et al. (2005) isolaram e identificaram 4 iridoides genamesídeos A-D, além dos já conhecidos ácidos geniposídico, geniposídeo, gardenosídeo e genipina gentiobiosídeo.

Em frutos coletados em Cuba, além de ácidos carboxílicos, Pino et al. (2005) identificaram na fração volátil, linalol e limoneno. Em outro trabalho, Pinto et al. (2006) descreveram 32 constituintes voláteis inéditos (álcoois, ésteres, ácidos e compostos aromáticos). Ono et al. (2007) descreveram três novos monoterpenoides (genipacetal, genipamida e genipaol) e quatro iridoides (genipina, gardendiol, éster metílico do ácido desacetilasperulosídico e shanzhisídeo). Foram identificadas a presença do campesterol, sigmasterol, β -sitosterol, Δ 5-avanasterol e Δ 7-sigmasterol juntamente com Δ 7-avanasterol na polpa dos frutos e sementes (COSTA et al., 2011). Recentemente, Alves et al. (2017) isolaram e caracterizaram dois novos iridoides do extrato de folhas de *G. americana*. Estes resultados são importantes para identificar novos metabólitos e investigar aplicações biológicas para este extrato (ALVES et al., 2017).

Análises fitoquímicas de extratos de folhas de *G. americana* revelaram a presença de iridoides, mono e sesquiterpenos, triterpenos e esteróides (SOUZA et al., 2018). Estes compostos bioativos têm atraído o interesse da comunidade científica devido aos seus efeitos benéficos (NÁTHIA-NEVES et al., 2017). Apesar das propriedades funcionais, o estudo destes compostos ainda é pouco explorado, principalmente nos frutos imaturos (NÁTHIA-NEVES et al., 2017). As propriedades biológicas comprovadas, bem como a diversidade química de compostos bioativos encontradas em *G. americana*, abrem perspectivas para o emprego de extratos desta rubiácea para auxiliar o controle espécies de ácaros pragas em associação ao controle biológico.

2.3 *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae)

Aceria guerreronis é considerado uma das mais sérias pragas da cultura do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) (LAWSON-BALAGBO et al., 2008). As colônias deste eriofídeo localizam-se abaixo das brácteas no perianto dos frutos (na região meristemática) e sua alimentação causa manchas branco-amareladas que tornam-se necróticas (MOORE; HOWARD, 1996; NAVIA et al., 2013).

Os danos causados por *A. guerreronis* tornam-se progressivamente visíveis como um triângulo branco na margem do perianto, à medida que o fruto infestado cresce, o tecido danificado torna-se necrótico com fissuras profundas e exudados gomosos (NAVIA et al., 2013). O ácaro-da-necrose causa queda de frutos (Figura 2A) e perdas significativas em todas as regiões produtoras do mundo, depreciando os frutos e comprometendo a comercialização (Figura 2B) (FERREIRA; MICHEREFF FILHO, 2002; HAQ et al., 2002).

A. guerreronis espalhou-se para a maioria das áreas produtoras de coqueiro em todo o mundo, e tem sido considerado uma das mais graves e importantes pragas do fruto em muitos países (NAVIA et al., 2013). A dispersão dos ácaros pode ser ativa - por meio da migração para novos tecidos hospedeiros ou plantas hospedeiras vizinhas, estabelecendo colônias; ou passiva - onde os ácaros são transportados para locais mais distantes (GALVÃO et al., 2012; NAVIA et al., 2013).



Figura 2. Imagem ampliada das colônias de *Aceria guerreronis* (A). Deformações nos frutos de coco devido ao ataque de *Aceria guerreronis* (B). Foto: Jessica F. Vasconcelos, Aracaju - SE, 2019.

Alguns motivos dificultam seu controle e avaliação, como a mobilidade, tamanho microscópico e estilo de vida oculto no interior das brácteas dos frutos em desenvolvimento (SIRIWARDENA; FERNANDO; PEIRIS, 2005). Para o controle químico, recomenda-se a pulverização com acaricidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), tais como a abamectina, azadiractina, espiromesifeno, hexitiazozí e fenpiroximato. Esta é a forma mais eficaz de controlar a praga, no entanto é insustentável devido à necessidade de aplicações frequentes e toxicidade a inimigos naturais, bem como a ácaros predadores (SIRIWARDENA; FERNANDO; PEIRIS, 2005; NAVIA et al., 2013).

Estudos conduzidos na Embrapa Tabuleiros Costeiros têm comprovado que os óleos de algodão, babaçu, soja degomado e coco possuem toxicidade e repelência ao ácaro-da-necrose, indicando bioatividade em condições de laboratório (TEODORO et al., 2014). Agentes que auxiliam o controle biológico da praga incluem fungos patogênicos (*Hirsutella thompsonii* e *Lecanicillium lecanii*) e ácaros predadores (*Neoseiulus baraki* e *Neoseiulus paspalivorus*) com destaque para os das famílias Phytoseiidae, Melicharidae e Bdellidae (TEODORO et al., 2014).

2.4. Compostos botânicos e o controle de ácaros praga

Os óleos essenciais originados do metabolismo secundário, possuem composição química complexa, formados em sua maioria por terpenos, podendo encontrar alguns outros compostos como, por exemplo, derivados de ácidos graxos, álcoois, cetonas, aldeídos, ésteres, lactonas e compostos nitrogenados (GONÇALVES et al., 2003; SIMÕES et al., 2010; QUINTANAR et al., 2012).

Os terpenos constituem o grupo mais complexo e diversificado de metabólitos secundários e principais componentes dos óleos essenciais. São biossintetizados a partir da condensação de unidades isoprênicas (5 carbonos), o difosfato de isopentinila (IPP) e o difosfato de dimetilalila (DMAPP), derivados em grande parte da rota biossintética do ácido mevalônico (Figura 3).

A produção destes compostos pode ocorrer em um órgão vegetal ou em toda a sua estrutura, funcionando para atração ou repelência de insetos polinizadores, regulando a transpiração e intervindo com hormônios na polinização (MARTINS et al., 2000).

O desenvolvimento vegetal e a produção de óleos essenciais em plantas medicinais são influenciados por vários fatores bióticos e abióticos, incluindo temperatura, luminosidade, pluviosidade, condições do solo, disponibilidade de nutrientes, parte e idade da planta utilizada, interações tróficas e região geográfica (MIRESMALLI et al., 2006; TAIZ; ZAIGER, 2009; SOUZA et al., 2010).

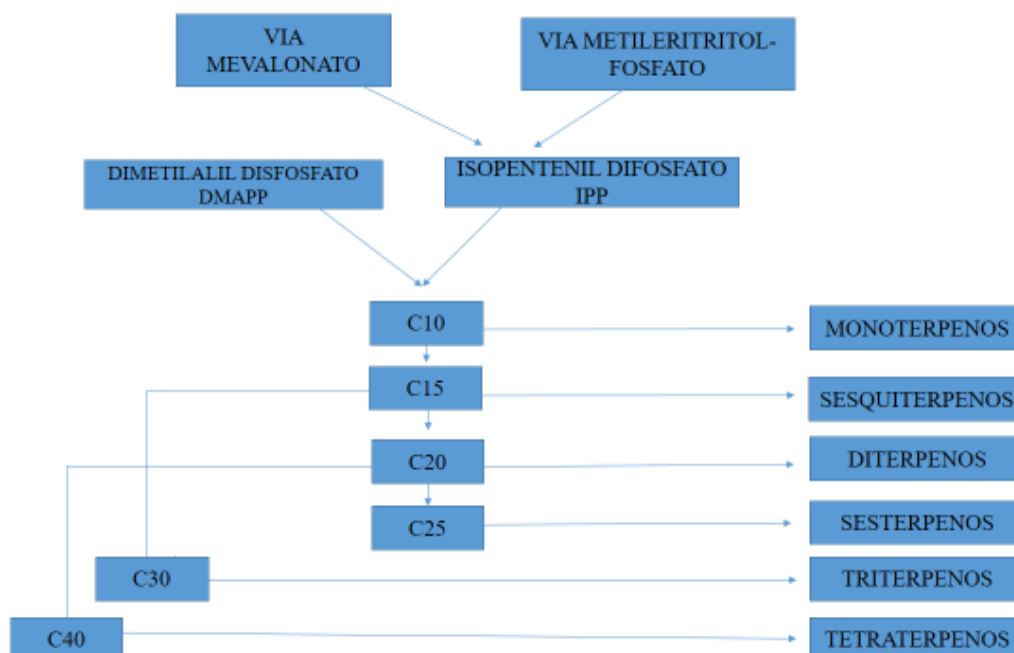


Figura 3. Representação esquemática da biossíntese dos principais grupos de terpenos. Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

Nos últimos anos, o uso de acaricidas/inseticidas naturais para auxiliar o manejo integrado de pragas tem se tornado urgente e necessário, em substituição aos agrotóxicos convencionais (CORDEIRO et al., 2010; ARAÚJO et al., 2012). Desta forma, os óleos essenciais são fontes de compostos bioativos com a vantagem de serem biodegradáveis e menos perigosos ao meio ambiente (DEHGHANI-SAMANI et al., 2015). Diversos compostos naturais vegetais tem sido empregados de forma eficaz no controle de pragas, em substituição aos acaricidas sintéticos (MIRESMALLI; ISMAN, 2014).

Iridoides são encontrados em diversas plantas medicinais e podem ser responsáveis por algumas de suas atividades farmacológicas (WILLINGER; DOBLER, 2001). Quando presentes em secreções de insetos, iridoides desempenham importante papel na defesa e na comunicação química (VILLASEÑOR, 2007). Além da defesa contra herbívoros, podem ser utilizados como marcadores taxonômicos de diversas famílias, com a vantagem de que a biossíntese exige precursores de baixa massa molecular e baixa atividade enzimática, portanto energeticamente favorável nos estágios iniciais de desenvolvimento da planta (BENTES; MERCADANTE, 2014; VILLASEÑOR, 2007; DINDA et al., 2007).

Diante do contexto do uso de metabólitos secundários, tais como óleos essenciais e extratos de plantas, objetivando o controle alternativo do ácaro-da-necrose e da notória quimiodiversidade observada em *G. americana* com vários compostos candidatos para uso como acaricidas naturais, torna-se evidente que os extratos botânicos de rubiáceas podem ser empregados para auxiliar o controle de pragas e reduzir o uso de agrotóxicos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, J. S. F.; MEDEIROS, L. A.; FERNANDES-PEDROSA, M. F.; ARAÚJO, R. M.; ZUCOLOTTI, S. M. Iridoids from leaf extract of *Genipa americana*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 5, p. 641–644, 2017.
- ARAÚJO, M.J.C.; CÂMARA, C.A.G.; BORN, F.S.; MORAES, M.M.; BADJI, C.A. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against. **Experimental Applied Acarology**, v. 57, n. 2, p. 139–155, 2012.
- BAILAO, E. F.; DEVILLA, I. A.; DA CONCEICAO, E. C.; BORGES, L. L. Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 23760-23783, 2015.
- BENTES, A. S., MERCADANTE, A. Z. Influence of the stage of ripeness on the composition of iridoids and phenolic compounds in genipap (*Genipa americana* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 5, n. 62, p. 10800–10808, 2014.
- BORGES, E. S.; REZENDE, C. M. Main aroma constituents of genipap (*Genipa americana* L.) and bacuri (*Platonia insignis* M.). **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 1, p. 71-74, 2000.
- CONCEICAO, A. O.; ROSSI, M. H.; DE OLIVEIRA, F. F.; TAKSER, L.; LAFOND, J. *Genipa americana* (Rubiaceae) fruit extract affects mitogen-activated protein kinase cell pathways in human trophoblast-derived BeWo cells: implications for placental development. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 5, p. 483-494, 2011.
- CORDEIRO, E.M.G.; CORRÊA, A.S.; VENZON, M.; GUEDES, R.N.C. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. **Chemosphere**, v. 81, n. 10, p. 1352–1357, 2010.
- CORDEIRO, J. M. P.; FÉLIX, L. P. Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 3, p. 685-692, 2014.
- COSTA, P. A. D.; BALLUS, C. A.; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T. Fatty acids profile of pulp and nuts of Brazilian fruits. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 31, n. 4, p. 950-954, 2011.
- DEHGHANI-SAMANI, A., MADRESEH-GHAHFAROKHI, S., DEHGHANI-SAMANI, A., PIRALI-KHEIRABADI, K. Acaricidal and repellent activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* against *Dermanyssus gallinae* (Acari : Mesostigmata). **Journal of Herbmmed Pharmacology**, v. 4, n.3, p. 81–84, 2015.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 3. ed. Chichester: John Wiley and Sons Ltd, 2009.
- DINDA, B.; DEBNATH, S.; HARIGAYA, Y. Naturally occurring secoiridoids and bioactivity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. A review, part 2. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin, (Tokyo)**, v. 55, n. 5, p. 689–728, 2007.

DJERASSI, C.; GRAY, J.D.; KINCL, F. Isolation and Characterization of Genipin. **Journal of Organic Chemistry**, v. 25, p. 2174–2177, 1960.

DJERASSI, C.; BUDZIKIEWICZ, H.; WILSON, J.M. Mass-spectrometry in structural and stereochemical problems. XXXII. Pentacyclic triterpenes. **Journal of American Chemistry Society**, v. 85, p. 3688-3699, 1961.

FERREIRA, J. M. S.; MICHEREFF FILHO, M. **Produção integrada de coco: práticas fitossanitárias**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 107p.

GALVÃO, A. S.; GONDIM JR., M. G. C.; MORAES, G. J.; OLIVEIRA, J. V. Biologia de *Amblyseius largoensis* (Muma) (Acari: Phytoseiidae), um Potencial Predador de *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) em Coqueiro. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 3, p. 465-470, 2007.

GALVÃO, A. S.; MELO, J. W. S.; MONTEIRO, V. B.; LIMA, D. B.; MORAES, G. J.; GONDIM JUNIOR, M. G.C. Dispersal strategies of *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a coconut pest. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 57, p. 1-13, 2012.

GONÇALVES, L. A.; BARBOSA, L. C. A; AZEVEDO, A. A.; CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, p.8, 2003.

GUARMACCIA, R.; MADYASTHA, K.M.; TEGTMEYER, E.; COSCIA, C.J. Geniposidic acid, an iridoid glucoside from *Genipa americana*. **Tetrahedron Letters**, v.13, n. 50, p. 5125-5127, 1972.

HAQ, M. A.; SUMANGALA, K.; RAMANI, N. Coconut mite invasion, injury and distribution, pp. 41-49, 2002. In FERNANDO, L. C. P.; MORAES, G. J.; WICKRAMANANDA, I. R. (eds.), Proceedings of the International Workshop on the Coconut Mite (*Aceria guerreronis*), 6-8 January 2000, Sri Lanka. **Coconut Research Institute**, Lunuwila, Sri Lanka.

HANSEN, D. D. S.; SILVA, S. A.; FONSECA, A. A. O.; HANSEN, O. A. D. S.; FRANÇA, N. O. Caracterização química de frutos de jenipapeiros nativos do Recôncavo Baiano visando ao consumo natural e industrialização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 4, p. 964-969, 2008.

LAWSON-BALAGBO, L. M.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; MORAES, G. J.; HANNA, R.; SCHAUSBERGER, P. Exploration of the acarine fauna on coconut palm in Brazil with emphasis on *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and its natural enemies. **Bulletin of Entomological Research**, London, UK, v. 98, n. 1, p. 83-96, 2008.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: UFV. 220p. 2000.

MIRESMAILLI, S.; BRADBURY, R.; ISMAN, M. B. Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. **Pest Management Science**, v. 62, n. 4, p. 366–371, 2006.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M.B. Botanical insecticides inspired by plant – herbivore chemical interactions. **Trends Plant Science**, v. 19, n. 1, p. 29–35, 2014.

MOORE D.; HOWARD, F. W. Coconuts. In: LINDQUIST, E. E.; SABELIS, M. W.; BRUIN, J. (eds). **Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control**. Elsevier, Amsterdam, v. 6, p. 561–570, 1996.

MOORE, D., L. ALEXANDER. Aspects of migration and colonization of the coconut palm by the coconut mite, *Eriophyes guerreronis* (Keifer) (Acari: Eriophyidae). Bull. **Entomology Research**, v. 77, n. 4, p. 641-650, 1987.

MOURA, S. M. S.; SOUSA, S. R. S.; CONDE-JÚNIOR, A. M. *Genipa americana* L.: prospecção tecnológica. **Jornal Interdisciplinar de Biociências**, v.1, n.2, p. 31-35, 2016.

NAVIA, D.; GONDIM, M. G., JR.; ARATCHIGE, N. S.; DE MORAES, G. J. A review of the status of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a major tropical mite pest. **Experimental and Applied Acarology**, v. 59, n. 1-2, p. 67-94, 2013.

NÁTHIA-NEVES, G.; TARONE, A.G.; TOSI, M.M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R.; MEIRELES, M.A.A. Extraction of bioactive compounds from genipap (*Genipa americana* L.) by pressurized ethanol: Iridoids, phenolic content and antioxidant activity. **Food Research International**, v.102, n. 1, p. 595–604, 2017.

ONO, M.; UENO, M.; MASUOKA, C.; IKEDA, T.; NOHARA, T. Iridoid glucosides from the fruit of *Genipa americana*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n. 10, p. 1342-1344, 2005.

ONO, M.; ISHIMATSU, N.; MASUOKA, C.; YOSHIMITSU, H.; TSUCHIHASHI, R.; OKAWA, M.; KINJO, J.; IKEDA, T.; NOHARA, T. Three new monoterpenoids from the fruit of *Genipa americana*. **Chem Pharm Bull (Tokyo)**, v. 55, n. 4, p. 632-634, 2007.

PACHECO, P.; DA PAZ, J. G.; DA SILVA, C. O.; PASCOAL, G. B. Composição centesimal, compostos bioativos e parâmetros físico-químicos do jenipapo (*Genipa americana* L.) in natura. **Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 9, n. 4, p. 1041-1054, 2014.

PINO, J.; MARBOT, R.; VAZQUEZ, C. Volatile constituents of genipap (*Genipa americana* L.) fruit from Cuba. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 6, p. 583-586, 2005.

PINTO, A.B.; GUEDES, C.M.; MOREIRA, R.F.A.; DE MARIA, C.A.B. Volatile constituents from headspace and aqueous solution of genipap (*Genipa americana*) fruit isolated by the solid-phase extraction method. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 21, n. 3, p. 488-491, 2006.

QUINTANAR, L. C.; FUNES, L.; VIUDES, E.; TUR, J.; MICOL, V.; ROCHE, E.; PONS, A. Antioxidant effect of lemon verbena extracts in lymphocytes of university students performing aerobic training program. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 22, n. 4, p. 454-61, 2012.

RAMOS-DE-LA-PEÑA, A. M.; RENARD, C. M. G. C.; MONTAÑEZ, J.; REYES-VEGA, M. D. L. L.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J.C. A review through recovery, purification and identification of genipin. **Phytochemistry Reviews**, v. 15, n. 1, 37–49, 2016.

SÁ, F. P. D.; SOUZA, F. V. D.; SILVA, A. V. C. D.; LÉDO, A. D. S. Encapsulamento, crioproteção e desidratação na capacidade regenerativa de ápices caulinares de *Genipa americana*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 11, p. 1939-1945, 2015.

SILVA, A. V. C.; FREIRE, K. C. S.; LÉDO, A. S.; RABBANI, A. R. C. Diversity and genetic structure of jenipapo (*Genipa americana* L.) Brazilian accessions. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 387-393, 2014.

SILVA, A. V. C.; LEDO, A. S.; MELO, M. F.V. *Genipa americana*-Jenipapo. In: CORADIN, L; CAMILLO, J; PAREYN, F. G. C. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste**. Brasília, DF: MMA, 2018. cap 5, p.169-176.

SILVA, J. R.; CHOZE, R. Estudo fitoquímico das raízes e flores de *Augusta longifolia*. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 6, p. 89-96, 2013.

SIRIWARDENA, P. H.; FERNANDO, L. C.; PEIRIS, T. S. A new method to estimate the population size of coconut mite, *Aceria guerreronis*, on a coconut. **Experimental and Applied Acarology**, v. 37, n. 1-2, p. 123-129, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R.(Orgs). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS: Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1104p.

SOUSA, L. A.; BAUTISTA, H. P.; JARDIM, J. G. Diversidade florística de Rubiaceae na Serra da Fumaça – complexo de Serras da Jacobina, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 3, p. 289-314, 2013.

SOUZA, M. F.; SOUZA JUNIOR, I. T; GOMES, P. A.; FERNANDES, L. A.; MARTINS, E. R.; COSTA, C. A.; SAMPAIO, R. A. Calagem e adubação orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em *Lippia citriodora* Kunth. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.12, n.4, p.401-405, 2010.

SOUZA, R. O. S. S.; SOUZA, P. L. S.; MENEZES, R. R. P. P. B.; T.L.S., SAMPAIO, T. L.; TESSAROLO, L. D.; SILVA, F. C. O.; PEREIRA, M. G.; MARTINS, A. M. C. Trypanocidal activity of polysaccharide extract from *Genipa americana* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, n.10, p. 311–317, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 819, 2009.

TALLENT, W.H. Two new antibiotic cyclopentanoid monoterpenes of plant origin. **Tetrahedron**, v. 20, n. 7, p. 1781-7, 1964.

TEODORO, A. V.; FERREIRA, J. M.; SILVA, S. S.; JUNIOR, A. S. N.; VASCONCELOS, J. F.; GUZZO, E. C. **Aspectos Bioecológicos e Manejo do Ácaro-da-necrose-do-coqueiro *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae)**. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Comunicado Técnico (CPATC), 2014 Aracaju-SE. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1009272>>. Acesso em: 31 jan. 2019.

UEDA, S.; IWAHASHI, Y. Production of anti-tumor-promoting iridoid glucosides in *Genipa americana* and its cell cultures. **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 6, p. 1677-1680, 1991.

VILLASEÑOR, I. Bioactivities of Iridoids. Antiinflammatory e Anti-allergy. **Agents in Medicinal Chemistry**, v. 6, n. 4, p. 307–314, 2007.

WILLINGER, G.; DOBLER, S. Selective sequestration of iridoid glycosides from their host plants in *Longitarsus flea* beetles. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 4, p. 335–346, 2001.

4. ARTIGO 1

IRIDOIDES DE FOLHAS DO JENIPAPEIRO E BIOATIVIDADE EM *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE)

Periódico submetido: Revista Brasileira de Ciências Agrárias

RESUMO

O jenipapeiro (*Genipa americana* L.) é uma árvore medicinal nativa da América do Sul e da região amazônica, onde é utilizada na medicina popular e consumida *in natura* na forma de doces, sucos, compotas e vinhos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade, persistência e repelência do extrato metanólico de folhas de jenipapeiro (EMFJ) e seus principais iridoides (genipina e geniposídeo), contra o principal ácaro praga do coqueiro, *Aceria guerreronis*. Os bioensaios de concentração e mortalidade revelaram uma forte atividade acaricida do EMFJ ao ácaro-da-necrose ($CL_{50} = 0,60 \text{ mg.mL}^{-1}$ e $CL_{90} = 16,69 \text{ mg.mL}^{-1}$). Além disso, a concentração letal do EMFJ ($0,6 \text{ mg.mL}^{-1}$) para os padrões genipina e geniposídeo mataram 50% e 62% de *A. guerreronis* após 24 h de exposição, respectivamente, destacando o papel desses iridoides na bioatividade do EMFJ. Os bioensaios de persistência do EMFJ revelaram toxicidade para *A. guerreronis* até 42 horas de pulverização. Além disso, as CL_{50} e CL_{90} do EMFJ foram capazes de repelir o ácaro-da-necrose após 1, 24 e 48 horas de exposição. Assim, o EMFJ pode ser considerado uma alternativa para auxiliar o controle integrado do ácaro-da-necrose em plantações de coco.

Palavras-chave: toxicidade, repelência, extrato metanólico, *Genipa americana*, ácaro-da-necrose.

ABSTRACT

Iridoids from the leaves of jenipapo provides insights into its bioactivity against *Aceria guerreronis*

Jenipapo (*Genipa americana* L.) is an medicinal tree native to South America and Amazon regions, where it was used as a popular traditional medicine and highly consumed in natura in the form of jams, juices, preserves, and wines. The aim of this study was to evaluate the toxicity, persistence, and repellence properties of leaf methanolic extract of jenipapo (LMEJ) and its major iridoids (genipin and geniposide) against the key coconut pest, the *Aceria guerreronis* mite. The concentration-mortality bioassays revealed strong acaricidal activity of LMEJ against the coconut mite ($LC_{50} = 0.60 \text{ mg.mL}^{-1}$ and $LC_{90} = 16.69 \text{ mg.mL}^{-1}$). In addition, standard concentrations (0.6 mg.mL^{-1}) of genipin and geniposide killed 50% and 62% of *A. guerreronis*, respectively, after 24 h exposure, highlighting the role of these iridoids in the acaricidal activity of LMEJ. Persistence bioassays of jenipapo LMEJ revealed toxicity to *A. guerreronis* up to 42 hours after spraying. Furthermore, LC_{50} and LC_{90} of LMEJ repelled the coconut mite after 1, 24, and 48 hours of exposure. Therefore, LMEJ can be considered an alternative to assist in integrated control of coconut mite in coconut plantations.

Key words: toxicity, repellency, methanolic extract, *Genipa americana*, coconut mite.

4.1. Introdução

O jenipapeiro, *Genipa americana* L. (Rubiaceae), é uma árvore amplamente distribuída na região tropical da América Central e do Sul (Pinto et al., 2006; Ono et al., 2007; Bentes & Mercadante, 2014; Bentes et al., 2014; Bailão et al., 2015). Vários compostos fenólicos encontrados nos frutos dessa planta são descritos na literatura, tais como: leucoantocianinas, catequinas, flavonas, antraquinonas, cumarinas, flavonóis, bem como triterpenoides e esteroides (Ono et al., 2007; Conceição et al., 2011; Omena et al., 2012; Alves et al., 2017).

Diversos iridoides tem sido isolados de *G. americana*, a saber: genamesídeo A-D, ácido geniposídico, geniposídeo, gardenosídeo, genipina-gentiobiosídeo, genipina, gardendiol, ácido metil éster deacetilasperulosídico, shanzhisídeo, genipacetil, genipamida e genipaol (Ono et al., 2007; Conceição et al., 2011; Omena et al., 2012). Além disso, o geniposídeo é o principal composto presente neste grupo, representando mais de 70% do total de iridoides, o qual pode ser usado para produzir a genipina (Bentes & Mercadante, 2014). Adicionalmente, iridoides possuem atividade biológica contra pragas (Xia et al., 2018).

O ácaro-da-necrose, *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae), é uma das pragas mais importantes do coqueiro em áreas produtoras em todo o mundo (Siriwardena et al., 2005; Lawson-Balogbo et al., 2008; Navia et al., 2013). Colônias de *A. guerreronis* desenvolvem-se protegidas sob o perianto dos frutos, onde alimentam-se do tecido meristemático, causando danos extensos, visíveis como uma mancha branca triangular, próxima à borda do perianto, tornando-se progressivamente necrótica e levando à redução do valor comercial (Navia et al., 2013; Lima et al., 2015).

No Brasil, aplicações de pesticidas para o controle do ácaro-da-necrose são conduzidas em intervalos mensais ou mais curtos, levando a altos custos de produção, surtos de pragas secundárias, contaminação ambiental, alimentar e humana (Siriwardena et al., 2005; Lima et al., 2015). Recentemente, o uso de produtos naturais de plantas para auxiliar programas de manejo de pragas tem ganhado atenção (Botti et al., 2015; Dehghani-Samani et al., 2015).

Embora vários estudos tenham relatado os efeitos acaricidas de metabólitos secundários de diversas espécies de plantas, a bioatividade de *G. americana*, rica em iridoides, até o presente momento não foi determinada. Devido à diversidade química dos compostos presentes no jenipapeiro e suas potenciais atividades biológicas, o objetivo deste trabalho foi avaliar a

toxicidade, persistência e repelência do extrato metanólico de folhas de jenipapeiro (EMFJ) e seus principais iridoides (genipina e geniposídeo) contra o ácaro-da-necrose, *A. guerreronis*.

4.2. Material e Métodos

Folhas sadias de *G. americana* foram coletadas em abril de 2016 no Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapo da Embrapa, localizado no município de Nossa Senhora das Dores (10°29'30"S-37°11'36"W- 204 m), estado de Sergipe. Para obter o EMFJ, 500g de folhas foram maceradas em MeOH por 48 horas. Em seguida, o extrato foi filtrado e concentrado. Os compostos genipina (690277-8) e geniposídeo (24512-63-8) utilizados nos bioensaios adicionais foram adquiridos da Sigma-Aldrich (98% de pureza).

Cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada para detectar os iridoides presentes nas folhas de *G. americana*. Cromatoplasmas em sílica gel (MERCK-Germany, 105553) foram desenvolvidas utilizando os sistemas de solventes: EtOAc-HCOOH-AcOH-H₂O (100: 11: 11: 26, v:v), EtOAc-HCOOH-AcOH-H₂O (100: 0.5: 0.5: 0.5, v:v). Resumidamente, uma alíquota de 10 µL de genipina, geniposídeo e EMFJ foi desenvolvida em placas cromatográficas. A detecção foi realizada utilizando vanilina e ácido sulfúrico como reagente.

Frutos de coco novos e saudáveis foram coletados para confecção de arenas e os ácaros foram obtidos de frutos novos infestados. A epiderme do perianto foi coberta por uma mistura de 5% de agar, 0,3% de metilparabeno (Nipagin®) como fungicida e água destilada. Discos (1 cm de diâmetro) foram abertos com ajuda de um vasador expondo a área da epiderme do fruto que serviu como unidade experimental.

As concentrações utilizadas foram selecionadas em bioensaios iniciais de concentração-mortalidade, situando-se entre os limites inferior (0%) e superior (100%) de mortalidade ao ácaro-da-necrose. Concentrações crescentes do EMFJ (0,06, 0,1, 0,2, 1,0, 2,0, 4,0 e 5,0 mg mL⁻¹) foram dissolvidas em acetona e subsequentemente pulverizadas através de uma torre Potter (Burkard, Rickmansworth, UK) a uma pressão de 5 psi com uma alíquota de pulverização de 9,3 mL, o que resultou num resíduo de 1,38 mg/cm², de acordo com a recomendação da IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/West Palearctic Regional Section) (Hassan et al., 1994). Discos pulverizados foram expostos ao ambiente por 30 minutos para secar.

Vinte adultos de *A. guerreronis* foram transferidos com a ajuda de um pincel fino. Oito arenas foram utilizadas para cada concentração do EMFJ e foram mantidas a 28 °C ± 2 °C, umidade relativa de 80% ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. A mortalidade dos ácaros foi avaliada após 24 horas de exposição e aqueles que não responderam ao estímulo do pincel, foram considerados mortos. Arenas do controle foram pulverizadas com acetona.

As concentrações letais do EMFJ em *A. guerreronis* foram determinadas pela análise Probit usando o software SAS (SAS Institute, 2002). Com base no valor estimado de CL₅₀ do EMFJ, o efeito tóxico dos padrões genipina e geniposídeo, nas concentrações (0,6 mg mL⁻¹), foram testados com o objetivo de investigar a atividade acaricida individual desses iridoides.

A persistência do EMFJ foi avaliada pulverizando a CL₉₀ em arenas usando os mesmos procedimentos descritos acima (adaptada de Ngamo et al., 2007). Vinte adultos de ácaros-da-necrose foram colocados em uma arena, em intervalos de 6 horas (ou seja, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48h após a pulverização), com cinco repetições. No grupo controle foi utilizado apenas o solvente acetona. A mortalidade foi registrada 24 horas após a transferência. Teste T foi utilizado para comparar diferenças na mortalidade de *A. guerreronis* expostos ao controle e à CL₉₀ do EMFJ em cada intervalo de tempo.

Para bioensaios de repelência, as arenas foram preparadas como descrito previamente, no entanto, cada uma das quais consistia em metade da área tratada e metade não tratada, que foi coberta com duas camadas de fita adesiva durante a pulverização (adaptada de Teodoro et

al., 2009). As arenas foram pulverizadas com o CL₅₀ e o CL₉₀ do EMFJ. Após a secagem da solução, um ponto de cola branca foi colocado no centro do disco (1,0 x 1,0 x 0,5 mm).

Adultos do ácaro-da-necrose foram dispostos individualmente no ponto de cola branca e sua posição foi avaliada após 1h, 24h e 48h. Três repetições foram realizadas para cada tratamento, sendo cada repetição de 20 ácaros, totalizando 60 ácaros por tratamento. O teste binomial, a 5% de probabilidade, foi utilizado para analisar as diferenças nas frações de ácaros que escolheram as áreas tratadas e não tratadas.

4.3. Resultados e Discussão

O EMFJ é tóxico para o ácaro-da-necrose (CL₅₀ = 0,60 mg.mL⁻¹, CL₉₀ = 16,69 mg.mL⁻¹), evidenciando que o genipapeiro é promissor para o controle desta praga chave (Tabela 1). Devido aos efeitos negativos relacionados ao uso de produtos sintéticos, especialmente agrotóxicos halogenados e organofosforados, e à crescente atenção no uso de produtos naturais para o manejo de pragas, diversos extratos de origem vegetal tornaram-se uma importante fonte para auxiliar o controle de pragas (Botti et al., 2015; Dehghani-Samani et al., 2015).

Tabela 1. Concentrações letais do extrato metanólico de folhas de jenipapeiro ao ácaro *Aceria guerreronis* baseado em bioensaios de concentração-mortalidade, após 24 horas de exposição.

CL(95% CI)	mg mL ⁻¹	χ^2	P	n
CL ₅₀	0,60 (0,41- 0,89)	9,523	P= 0,089	160
CL ₉₀	16,69 (7,46-63,01)			
CL ₉₉	250,25(65,61- 2408)			

Valores médios obtidos (n = 8 repetições com 20 ácaros adultos por repetição). As concentrações letais foram estimadas usando análise Probit. IC = Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, χ^2 = Qui-quadrado, P = Probabilidade.

Em estudos prévios, testou-se extratos do perfil lipidômico de famílias de Arecaceae, Fabaceae e Malvaceae (óleos de babaçu, óleo de coco, óleo de algodão e óleo de soja degomado) contra *A. guerreronis*. Todos os extratos exibiram toxicidade para esta praga. Os compostos majoritários presentes no perfil lipidômico do óleo de soja e do óleo de algodão foram os ácidos linoleico e oleico, responsáveis pela bioatividade contra o ácaro-da-necrose (Oliveira et al., 2017; Teodoro et al., 2017).

Os iridoides genipina e geniposídeo na concentração de 0,6 mg.mL⁻¹ causaram 50% e 61,87% de mortalidade em *A. guerreronis* após 24 horas de exposição, respectivamente. Estes achados sugerem que os compostos iridoides majoritários, genipina e geniposídeo, contribuem para a bioatividade do EMFJ contra *A. guerreronis*. (Ono et al., 2007; Conceição et al., 2011; Codignoto et al., 2017; Xia et al., 2018).

Os bioensaios de persistência revelaram mais de 60% de mortalidade de *A. guerreronis* quando expostos à CL₉₀ do EMFJ após 6 h de pulverização. Em geral, uma diminuição na mortalidade de *A. guerreronis* é observada até 42 h após a pulverização, contrastando com a mortalidade observada no tratamento controle. Isto indica que a persistência do EMFJ é baixa e o efeito tóxico é observado em até 42 h após a pulverização (Figura 1). A baixa persistência pode ser explicada pela oxidação dos compostos, uma vez que a presença de fenólicos é significativa no extrato (Kosini & Nukenine, 2017). A atividade acaricida residual é crucial para o manejo de *A. guerreronis*. Desta forma, a compreensão da persistência é importante, pois essa praga é de difícil controle, por habitar o perianto dos frutos e a necessidade de aplicações frequentes de acaricidas (Galvão et al., 2012; Melo et al., 2012).

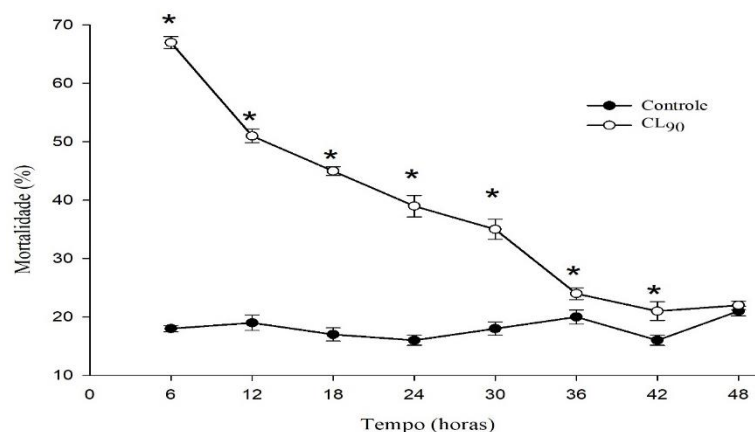
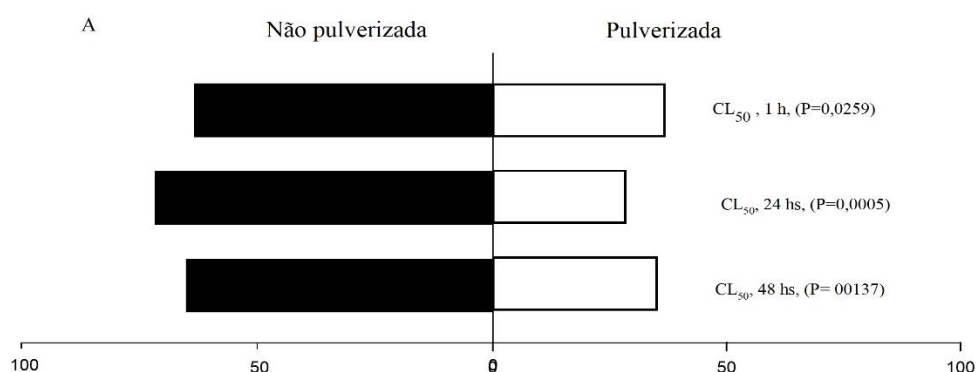


Figura 1. Mortalidade média de adultos de *Aceria guerreronis* expostos por 24 h à CL₉₀ do extrato metanólico de folhas de jenipapeiro em diferentes intervalos de tempo após a aplicação. Os asteriscos denotam diferenças estatísticas entre os tratamentos (teste t, $P < 0,05$).

As CL₅₀ e CL₉₀ do EMFJ foram repelentes ao ácaro-da-necrose após 1, 24 e 48 horas de aplicação (Figura 2A; Figura 2B), indicando que os ácaros foram capazes de detectar e evitar áreas tratadas. A atividade repelente observada pode ser atribuída à rica composição química dos iridoides e ao fato de que eles atuam nas plantas como defesa contra os herbívoros (Ono et al., 2007; Bentes & Mercadante 2014). A repelência de compostos de origem botânica tem sido apontada como uma estratégia eficiente para evitar a infestação de pragas em agroecossistemas, capaz de reduzir a oviposição, lesões, perdas de produtividade e consequentemente o custo de controle de algumas pragas (Andrade et al., 2013).

Assim, além da toxicidade, é importante entender os efeitos subletais, como a repelência, visando o controle de pragas. Alguns estudos relatam as atividades de repelência de extratos de plantas contra ácaros praga (Oliveira et al., 2017; Teodoro et al., 2017). Os óleos vegetais são repelentes ao ácaro-da-necrose, tornando-se uma ferramenta promissora para programas de manejo integrado de pragas, objetivando o controle *A. guerreronis* (Teodoro et al., 2017).



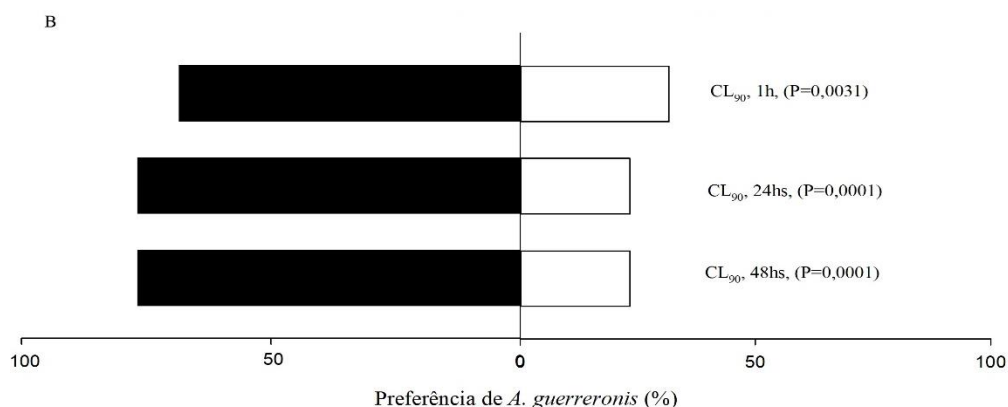


Figura 2. Repelência da CL₅₀ (A) e CL₉₀ (B) do extrato metanólico de folhas de jenipapeiro ao ácaro-da-necrose, *Aceria guerreronis*, após 1, 24 e 48 horas de pulverização. Barras pretas indicam áreas de controle não tratadas e barras brancas denotam áreas tratadas

Estes resultados sugerem que os compostos iridoides majoritários de *G. americana* desempenham um papel importante na toxicidade, persistência e repelência observadas. No geral, os resultados indicam que o EMFJ é um potencial candidato para o desenvolvimento de pesticidas à base de plantas para uso no manejo integrado de *A. guerreronis*. Além disso, os principais iridoides genipina e geniposídeo explicam, pelo menos em parte, a bioatividade do EMFJ em *A. guerreronis*. Mais testes em laboratório e em campo são necessários para avaliar os possíveis efeitos subletais EMFJ a inimigos naturais de *A. guerreronis*.

4.4. Conclusões

O EMFJ possui efeito acaricida, repelência ao ácaro-da-necrose *A. guerreronis* e seus principais iridoides, genipina e geniposídeo, têm papel relevante na bioatividade observada. O EMFJ possui baixa persistência a *A. guerreronis*, indicando que a mortalidade é concentrada nas primeiras 42 horas após a pulverização. Além disso, o EMFJ pode ser considerado uma alternativa para auxiliar no controle integrado do ácaro-da-necrose em plantações de coco.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Universidade Federal de Sergipe (UFS) e a Embrapa Tabuleiros Costeiros pelo apoio financeiro.

4.5. Referências Bibliográficas

- Alves, J.S.F.; Medeiros, L.A. de; Fernandes-Pedrosa, M. de F.; Araújo, R. M.; Zucolotto, S. M. Iridoids from leaf extract of *Genipa americana*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.27, n.5, p.641–644, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2017.03.006>.
- Andrade, de L.H.; Oliveira, de J.V.; Lima, I.M. de M.; Santana, M.F de; Breda, M.O. Efeito repelente de azadiractina e óleos essenciais sobre *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em algodoeiro. *Revista Ciência Agronômica*, v. 44, n.3, p.628–634, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902013000300027>.
- Bailão, E.F.L.C.; Devilla, I.A.; Conceição, da E.C.; Borges, L.L. Bioactive compounds found in Brazilian Cerrado fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 16, n. 10, p. 23760–23783, 2015. doi: 10.3390/ijms161023760.
- Bentes, A. de S.; Mercadante, A.Z. Influence of the stage of ripeness on the composition of iridoids and phenolic compounds in genipap (*Genipa americana* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, n. 44, p. 10800–10808, 2014. doi: 10.1021/jf503378k.

- Bentes, A. de S.; Souza, H.A.L. de; Amaya-Farfan, J.; Lopes, A.S.; Faria, L.J.G. de. Influence of the composition of unripe genipap (*Genipa americana* L.) fruit on the formation of blue pigment. *Journal of Food Science and Technology*, v.52, n.6, p.3919–3924, 2014. doi: 10.1007/s13197-014-1651-9.
- Botti, J.M.C.; Holtz, A.M.; Paulo, H.H. de P.; Franzin, M.L.; Pratissoli, D.; Pires, A. A. Controle alternativo do *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae) com extratos de diferentes espécies de plantas. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.10, n.2, p.178-183, 2015. doi:10.5039/agraria.v10i2a3520.
- Codignoto, P.S.C.; Araújo, S.B.; Bastos, N.M.; Fernandes, T. de O.; Barbosa, T.A.S.; Igidio, C.E.D.; Faustino, F.; Fernandes, M.J.B.; Conceição, A.O. da. *In vitro* cytotoxicity and biological activities of *Genipa americana* (Rubiaceae) ethanolic extracts. *African Journal of Microbiology Research*, v. 11, n.9, p.385–390, 2017. doi: 10.5897/AJMR2016.8418.
- Conceição, A.O. da; Rossi, M.H.; Oliveira, F.F. de; Takser, L.; Lafond, J. *Genipa americana* (Rubiaceae) fruit extract affects mitogen-activated protein kinase cell pathways in human trophoblast-derived BeWo cells: Implications for placental development. *Journal of Medicinal Food*, v.14, n.5, p.483–494, 2011. doi: 10.1089/jmf.2009.0279.
- Dehghani-Samani, A.; Madreseh-Ghahfarokhi, S.; Dehghani-Samani, A.; Pirali-Kheirabadi, K. Acaricidal and repellent activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* against *Dermanyssus gallinae* (Acari : Mesostigmata). *Journal of HerbMed Pharmacology*, v.4, n.3, p.81–84, 2015. <http://www.herbmedpharmacol.com/PDF/JHP-4-81.pdf>. 14 Abr. 2018.
- Galvão, A.S.; Melo, J.W.S.; Monteiro, V.B.; Lima, D.B.; Moraes, G.J. de; Gondim-Jr, M.G.C. Dispersal strategies of *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a coconut pest. *Experimental and Applied Acarology*, v.57, n.1, p.1–13, 2012. doi:10.1007/s10493-012-9527-z.
- Hassan, S.A.; Bigler, F.; Bogenschütz, H.; Boller, E.; Brun, J.; Calis, J.N.M. Coremans-Pelseneer, J.; Duso, C.; Grove, A.; Heimbach, U.; Helyer, N.; Hokkanen, H.; Lewis, G.B.; Mansour, F.; Moreth, L.; Polgar, L.; Samsoe-Petersen, L.; Sauphanor, B.; Staubli, A.; Sterk, G.; Vainio, A.; Van De Veire, M.; Viggiani, G.; Vogt, H. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS working group "pesticides and beneficial organisms". *Entomophaga*, v.39, n.1, p.107-119, 1994. doi: 10.1007/BF02373500.
- Kosini, D.; Nukenine, N. Bioactivity of novel botanical insecticide from *Gnidia kaussiana* (Thymeleaceae) against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) in stored *Vigna subterranea* (Fabaceae) Grains. *Journal of Insect Science*, v.17, n.1, p.1–7, 2017. doi: 10.1093/jisesa/iex004.
- Lawson-Balagbo, L.M.; Gondim-Jr, M.G.C.; Moraes, G.J. de; Hanna, R.; Schausberger, P. Exploration of the acarine fauna on coconut palm in Brazil with emphasis on *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and its natural enemies. *Bulletin of Entomological Research*, v.98, n.1, p.83–96, 2008.
- Lima, D.B.; Melo, J.W.S.; Gondim-Jr, M.G.C.; Guedes, R.N.C.; Oliveira, J.E. de M.; Pallini, A. Acaricide-impaired functional predation response of the phytoseiid mite *Neoseiulus baraki* to the coconut mite *Aceria guerreronis*. *Ecotoxicology*, v.24, n.5, p.1124–1130, 2015. doi: 10.1007/s10646-015-1459-z.
- Melo, J.W.S.; Domingos, C.A.; Pallini, A.; Oliveira, J.E. de M.; Gondim-Jr, M.G.C. Removal of bunches or spikelets is not effective for the control of *Aceria guerreronis*. *HortScience*, v. 47, n.5, p.626–630, 2012. <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/924435/1/Eudes2012.pdf>. 18 Abr. 2018.
- Navia, D.; Gondim-Jr, M.G.C.; Aratchige, N.S.; Moraes, G.J. de. A review of the status of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a major tropical mite pest. *Experimental And Applied Acarology*, v.59, n.1-2, p.67–94, 2013. doi:10.1007/s10493-012-9634-x.

- Ngamo T. S. L.; Ngatanko I.; Ngassoum M. B.; Mapongmestsem P. M.; Hance T. Persistence of insecticidal activities of crude essential oils of three aromatic plants towards four major stored product insect pests Afr. J. Agric. Res. v. 2, p. 173-177, 2007.
- Oliveira, N.N.F.C.; Galvão, A.S.; Amaral, E.A.; Santos, A.W.O.; Sena-Filho, J.G. de; Oliveira, E.E.; Teodoro, A.V. Toxicity of vegetable oils to the coconut mite *Aceria guerreronis* and selectivity against the predator. Experimental And Applied Acarology, v.72, n.1, p.23-34, 2017. doi:10.1007/s10493-017-0134-x.
- Omena, C.M.B.; Valentim, I.B.; Guedes, G. da S.; Rabelo, L.A.; Mano, C.M.; Bechara, E.J.H.; Sawaya, A.C.H.F.; Trevisan, M.T.S.; Costa, J.G. da; Ferreira, R.C.S.; Sant'ana, A.E.G.; Goulart, M.O.F. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits. Food Research International, v.49, n.1, p.334–344, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.010>.
- Ono, M.; Ishimatsu, N.; Masuoka, C.; Yoshimitsu, H.; Tsuchihashi, R.; Okawa, M.; Kinjo, J.; Ikeda, T.; Nohara, T. Three new monoterpenoids from the fruit of *Genipa americana*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, v.55, n.4, p.632–634, 2007. <https://doi.org/10.1248/cpb.55.632>.
- Pinto, A.B.; Guedes, C.M.; Moreira, R.F.A.; Maria, C.A.B. de. Volatile constituents from headspace and aqueous solution of genipap (*Genipa americana*) fruit isolated by the solid-phase extraction method. Flavour and Fragrance Journal, v.21, n.3, p.488–491, 2006. <https://doi.org/10.1002/ffj.1623>.
- Siriwardena, P.H.A.P.; Fernando, L.C.P.; Peiris, T.S.G. A new method to estimate the population size of coconut mite, *Aceria guerreronis*, on a coconut. Experimental And Applied Acarology, v.37, n.1-2, p.123–129, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10493-005-7125-z>
- Teodoro, A.V.; Tschardtke, T.; Klein, A.M. From the laboratory to the field: contrasting effects of multi-trophic interactions and agroforestry management on coffee pest densities. Entomol. Exp. Appl. v. 13, 121-129, 2009. doi: 10.1111/j.1570-7458.2009.00840.x
- Teodoro, A.V.; Silva, M. de J. de S.; Sena-Filho, J.G. de.; Oliveira, E.E. de; Galvão, A.S.; Silva, S.S. Bioactivity of cottonseed oil against the coconut mite *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and side effects on *Typhlodromus ornatus* (Acari: Phytoseiidae). Systematic & Applied Acarology, v.22, n.7, p.1037–1047, 2017. <https://doi.org/10.11158/saa.22.7.11>.
- Xia, Q.; Dong, J.; Li, L.; Wang, Q.; Liu, Y.; Wang, Q. Discovery of glycosylated genipin derivatives as novel antiviral, insecticidal, and fungicidal agents. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.66, n.6, p.1341–1348, 2018. doi: 10.1021/acs.jafc.7b05861.

5. ARTIGO 2

QUIMIODIVERSIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Genipa americana* (RUBIACEAE) E ATIVIDADE ACARICIDA EM *Aceria guerreronis* (ACARI: ERIOPHYIDAE)

Periódico a ser submetido: Plant Science Frontiers

RESUMO

O jenipapeiro, *Genipa americana* L. (Rubiaceae), distribuído em regiões tropicais da América Central e do Sul, possui ampla diversidade de metabólitos secundários, incluindo iridoides, compostos fenólicos e alcaloides, aos quais tem sido atribuídos propriedades farmacológicas e biológicas. Apesar de não haver relatos sobre os compostos voláteis de folhas de *G. americana*, verificou-se alta quimioidiversidade e forte oxidação lipídica na composição química dos voláteis obtidos de folhas. Compostos voláteis de folhas jovens e maduras de *G. americana* foram avaliados quanto à composição durante diferentes tempos de extração. A composição química dos óleos essenciais foi identificada por cromatografia e espectrometria. Analisou-se a atividade acaricida dos óleos essenciais utilizando-se bioensaios de toxicidade e repelência em *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae), uma praga séria do coqueiro em áreas de produção em todo o mundo. Verificou-se forte oxidação na composição volátil, sugerindo a expressão de oxidades. Nas folhas jovens houve predominância de monoterpenos, sesquiterpenos, aldeídos e ácidos graxos. Nas folhas maduras, os mesmos compostos estiveram presentes, incluindo alguns diterpenos, sugerindo a expressão da diterpeno sintase durante a senescência das folhas. Os principais compostos identificados foram: naftaleno, (*E*)- β -ocimeno, (2*E*)-decenal, (2*E*,4*E*)-decadienal, (*E*)-cariofileno, (*E*)- β -ionona, (*E*,*E*)- α -farnesene, benzoato de hexila, pentadecanal e o ácido linoleico. A atividade acaricida do óleo essencial foi comprovada ($CL_{50} = 0,41 \text{ mg.ml}^{-1}$; $CL_{90} = 6,43 \text{ mg.ml}^{-1}$) e os valores estimados de CL_{50} e CL_{90} repeliram o ácaro-da-necrose após 24 h de exposição. O óleo essencial obtido de folhas de *G. americana* possui potencial para o desenvolvimento de um produto natural com atividade acaricida em *A. guerreronis* para auxiliar o controle em plantações de coqueiro.

Palavras-chave: *Cocos nucifera*, bioatividade, repelência.

ABSTRACT

Chemodiversity of the essential oil from the leaves of *Genipa americana* (Rubiaceae) and acaricidal activity against *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae)

The jenipapo tree, *Genipa americana* L. (Rubiaceae), spread throughout tropical regions of Central and South America, has a wide diversity of secondary metabolites, including iridoids, phenolic compounds, and alkaloids shown to have pharmacological and biological properties. Although there were no reports on the volatile compounds of *G. americana* leaves, there was high chemodiversity and strong lipid oxidation in the chemical composition of the volatiles obtained from the leaves. The composition of volatile compounds of young mature leaves of *G. americana* were evaluated during different extraction times. The chemical composition of the essential oils was identified by chromatography and spectrometry. The acaricidal activity of the essential oils was analyzed by bioassays indicating their toxicity and repellency against *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae), a serious coconut pest in production areas around the world. There was strong oxidation in the volatile composition, suggesting the expression of oxidases. In the young leaves, there was predominance of monoterpenes, sesquiterpenes, aldehydes, and fatty acids. In the mature leaves, the same compounds were present, including some diterpenes, suggesting the expression of diterpene synthase during leaf senescence. The major compounds identified were naphthalene, (E)- β -ocimeno, (2E)-decenal, (2E,4E)-decadienal, (E)-cariophyllene, (E)- β -ionone, (E,E)- α -farnesene, hexyl benzoate, pentadecanal, and linoleic acid. The acaricidal activity of the essential oil was confirmed ($LC_{50} = 0.41 \text{ mg mL}^{-1}$; $LC_{90} = 6.43 \text{ mg mL}^{-1}$) and the estimated values of LC_{50} and LC_{90} repelled the coconut mite 24 hours after application. The essential oil obtained from *G. americana* leaves has potential for development of a natural product with acaricidal activity against *A. guerreronis* to assist in control in coconut plantations.

Key-words: *Cocos nucifera*, bioactivity, repellency.

5.1. Introdução

Genipa americana L. (Rubiaceae), vulgarmente conhecida como jenipapeiro, é um táxon de valor econômico amplamente distribuído em regiões tropicais da América Central e do Sul. Além de seu uso como valor medicinal, possui potencial para recuperação de áreas degradadas (Bailão et al., 2015; Sá et al., 2015). Diversos terpenoides e compostos fenólicos foram identificados e isolados de frutos do jenipapeiro, tais como monoterpenos, iridoides, flavonoides, taninos e esteroides (Ono et al., 2007; Conceição et al., 2011; Omena et al., 2012; Bentes e Mercadante et al., 2014; Nogueira et al., 2014; Alves et al., 2017). No entanto, há poucas pesquisas que avaliam a composição química das folhas, de fato, apenas dois novos iridoides do extrato das folhas *G. americana* foram relatados recentemente (Alves et al., 2017).

O ácaro-da-necrose, *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae), é uma das principais espécies, considerada uma séria praga da cultura do coqueiro em áreas de produção de coco no mundo, incluindo as Américas, África, alguns países asiáticos e o nordeste do Brasil, onde ocorre em altos níveis populacionais (Lawson-Balagbo et al., 2008; Melo et al., 2011; Souza et al., 2012; Navia et al., 2013; Souza et al., 2017). Populações de ácaros-da-necrose são encontradas sob o perianto, no tecido meristemático dos frutos (Lima et al., 2012; Navia et al., 2013; Melo et al., 2014; Souza et al., 2017; Calvet et al., 2018). Nas brácteas, o ácaro-da-necrose causa clorose de forma triangular e, quando se desenvolve, torna-se marrom, causando rachaduras superficiais e longitudinais de cor marrom escuro (Moreira et al., 2002; Souza et al., 2017).

Embora o controle químico seja o único meio conhecido para controlar a praga de forma eficaz, este não é sustentável devido à necessidade de aplicação frequente, regular e alto custo

(Siriwardena et al., 2005). Consequentemente, o controle químico associado a outras medidas como controle cultural, acaricidas de origem vegetal e o controle biológico podem ser adotados para manter esta espécie em níveis populacionais aceitáveis (Moreira et al., 2002). Além disso, o controle desta praga é difícil devido à alta mobilidade, tamanho microscópico e estilo de vida oculto no interior das brácteas (Siriwardena et al., 2005). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição volátil do óleo essencial das folhas jovens e maduras de *G. americana* quanto à sua oxidação durante diferentes tempos de extração e a bioatividade frente a *A. guerreronis*.

5.2. Material e Métodos

5.2.1. Material vegetal

Folhas sadias jovens e maduras de *G. americana* foram coletadas na cidade de Nossa Senhora das Dores - Sergipe, no campo experimental (BAG Jenipapo) (10 ° 29'30 "S-37 ° 11" 36 "W-204 m de altitude) entre os meses de março e abril 2016.

5.2.2. Extração de óleo essencial (OE)

Folhas jovens e maduras foram separadas e submetidas a hidrodestilação utilizando um aparelho do tipo Clevenger modificado (Sena Filho et al., 2010) nos tempos 24, 48 e 72 h após a coleta do material vegetal durante 3 horas. Os OEs obtidos foram secos com sulfato de sódio anidro em pó, armazenados a 4 °C e selados num frasco âmbar antes da análise química por CG-EM/DIC.

5.2.3. Análise CG-EM/DIC

As análises cromatográficas (CG) foram realizadas utilizando um CG-MS/FID (QP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Quioto, Japão) equipado com um amostrador automático AOC-20i (Shimadzu). As separações foram realizadas usando uma coluna capilar de sílica fundida Rtx®-5MS Restek (polissiloxano com 5% de difenil-95% de dimetil) de 30 m x 0,25 mm de diâmetro interno (d.i.), 0,25 µm de espessura de filme, em um fluxo constante de hélio (99,999%) com taxa de escoamento de 1,2 mL/min.

Foi utilizado um volume de injeção de 0,5 µL (5 mg/mL), com uma razão de divisão de 1:10. A temperatura do forno foi programada com 60°C (isotérmica durante 1,5 min), com um aumento de 5 °C/min à 300°C, em seguida a 10 °C/min até 250°C, terminando com uma isotérmica de 9 min a 250°C. Os dados MS e FID foram simultaneamente adquiridos empregando um sistema detector de separação; a razão de escoamento de separação foi de 5:1 (MS:FID). Um tubo restritor de 0,62 m x 0,15 milímetros de d.i. (coluna capilar) foi utilizado para conectar o divisor ao detector MS; um tubo restritor de 0,74 m x 0,22 milímetros de d.i. foi utilizado para conectar o divisor ao detector FID.

Os dados de MS (cromatograma iônico total, TIC) foram adquiridos no modo de varredura completa (m/z de 40-550) a uma taxa de varredura de 0,3 varredura/s usando o EI com uma energia eletrônica de 70 eV. As temperaturas do injetor e da fonte de íons foram de 280°C. A temperatura do FID foi ajustada para 300°C, e o fornecimento de gás para o FID foram hidrogênio, ar e hélio em taxas de fluxo de 30, 300 e 30 mL/min, respectivamente.

A quantificação de cada componente foi estimada por normalização da área de pico gerada (%) no FID. As concentrações de compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos de CG e foram dispostas em ordem de eluição de CG. A identificação dos componentes individuais do óleo essencial foi realizada com base nos índices de retenção para uma série homóloga de n-alcanos (C₇-C₃₀) como os descritos na literatura (Adams, 2007), bem como pela correspondência computadorizada do espectro de massa adquirido com aquelas armazenadas nas bibliotecas do equipamento (Linstrom e Mallard, 2005; Adams, 2007).

5.2.4. Bioensaios de toxicidade e de repelência

Frutos de coqueiro, de aproximadamente 10 semanas, foram coletados para a construção de arenas e frutos jovens infestados para obtenção dos ácaros-da-necrose. A epiderme do perianto foi coberta por uma mistura de 5% de agar, 0,3% de metilparabeno (Nipagim®) como fungicida e água destilada. Discos (1 cm de diâmetro) foram abertos com ajuda de um vasador expondo a área da epiderme do fruto que serviu como unidade experimental.

As concentrações utilizadas foram selecionadas em bioensaios iniciais de concentração-mortalidade (Silva et al., 2013), situando-se entre os limites inferior (0%) e superior (100%) de mortalidade ao ácaro-da-necrose. Concentrações crescentes do OE (0,06, 0,1, 0,2, 1,0, 2,0, 4,0 e 5,0 mg ml⁻¹) foram dissolvidas em acetona e subsequentemente pulverizadas através de uma torre Potter (Burkard, Rickmansworth, UK) a uma pressão de 5 psi com uma alíquota de pulverização de 9,3 mL, o que resultou num resíduo de 1,38 mg/cm², de acordo com a recomendação da IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/West Palearctic Regional Section) (Hassan et al., 1994).

Discos pulverizados foram expostos ao ambiente por 30 minutos para secar. Arenas do tratamento controle foram pulverizadas com acetona e 20 adultos foram transferidos com a ajuda de um pincel. Oito arenas (réplicas) foram utilizadas para cada concentração do OE testado e foram mantidas a 24°C. A mortalidade foi avaliada após 24 h de exposição e os ácaros que não responderam ao estímulo do pincel foram considerados mortos.

Para bioensaios de repelência, as arenas foram preparadas como descrito previamente, no entanto, cada uma das quais consistia em metade da área tratada e metade não tratada, que foi coberta com duas camadas de fita adesiva durante a pulverização (Adaptado de Teodoro et al., 2009). As arenas foram pulverizadas com o CL₅₀ e o CL₉₀ do OE. Após a secagem da solução, um ponto de cola branca foi colocado no centro do disco (1,0 x 1,0 x 0,5 mm).

Adultos de ácaros-da-necrose foram posicionados individualmente no ponto de cola branca e sua posição foi avaliada após 1h, 24h e 48h. Três repetições foram realizadas para cada tratamento, e as repetições consistiram de 20 ácaros, totalizando 60 ácaros por tratamento.

5.2.5. Análise dos dados

A concentração letal de 50% (CL₅₀) e os limites de confiança (LC) do OE *G. americana* foram estimados pela análise de Probit utilizando o *software* SAS (SAS Institute, 2002). O teste binomial, a 5% de probabilidade, foi utilizado para analisar as diferenças entre as frações de ácaros que escolheram as áreas tratadas e não tratadas.

5.3. Resultados e Discussão

5.3.1. Composição química

Identificou-se a presença de ácidos graxos de cadeia curta, aldeídos, monoterpenos, sesquiterpenos, nas folhas jovens e ácidos graxos de cadeia curta, monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos nas folhas maduras. Houve variação na composição química (Tabela 1) qualitativa e quantitativa dos voláteis durante o período de 24h, 48h e 72h após a coleta do material vegetal. A presença de hibaeno, kaura-16-ene, apenas em folhas maduras, e ácido hexadecanóico apenas nas folhas jovens, esclarece sobre a via biossintética e a expressão das enzimas durante o período de desenvolvimento das folhas.

A análise química resultou na identificação de 76 compostos. Os principais compostos identificados nas folhas maduras e jovens foram naftaleno, (*E*)-β-ocimeno, (*2E*)-decenal, (*2E,4E*)-decadienal, (*E*)-cariofileno, (*E*)-β-ionona, (*E,E*)-α-farneseno, benzoato de hexila, pentadecanal e o ácido linoleico. No óleo essencial das folhas maduras houve predominância dos compostos (*E*)-β-ocimeno, (*2E*)-decenal, e (*E,E*)-α-farneseno, enquanto no óleo essencial das folhas jovens verificou-se maiores quantidades de naftaleno, pentadecanal e ácido linoleico.

Tabela 1. Principais compostos (%) identificados no óleo essencial extraído de folhas de *G. americana* durante diferentes tempos de extração. Folhas maduras 24h (M1); Folhas jovens 24 h (J1); Folhas maduras 48 h (M2); Folhas jovens 48 h (J2); Folhas maduras 72h (M3) e folhas jovens 72h (J3).

tr (min)	Composto	IR exp.	IR lit.	M1	J1	M2	J2	M3	J3
6.250	(3Z)-hexen-1-ol	840	850	0,66	tr	-	-	-	-
6.550	hexan-1-ol	852	863	3,87	1,04	-	-	-	-
9.615	(2E)-heptenal	947	947	tr*	0,43	-	-	-	-
11.080	2-pentilfurano	982	984	0,19*	0,28	-	-	tr*	-
11.355	ácido hexanóico	989	967	tr*	0,43	-	0,30	0,92	0,56
12.865	m/z 67(100), 95, 124	1023		0,40	1,74	-	-	-	-
13.635	(E)- β -ocimeno	1039	1044	4,67	0,65	-	-	-	-
14.085	(2E)-octenal	1049	1049	0,44	0,77	-	-	-	-
14.820	1-octanol	1065	1063	0,94	1,30	-	0,47	0,54	0,35
16.095	linalol	1092	1095	0,69	tr	-	-	-	-
16.280	(6Z)-nonenal	1096	1097	0,26	0,75	-	-	-	-
19.015	(2E)-nonenal	1152	1157	0,27	0,25	-	-	-	-
20.165	naftaleno	1175	1178	0,65*	1,73*	-	tr*	-	-
20.185	ácido octanóico	1176	1167	tr*	tr*	-	tr*	-	0,40
20.760	salicilato de metila	1187	1190	0,31	0,66	-	-	-	-
22.010	β -ciclocitral	1213	1217	0,30	tr	-	-	-	-
23.825	geraniol	1251	1249	-	-	-	tr	tr	tr
23.970	(2E)-decenal	1254	1260	3,72	1,01	-	tr	1,09	0,68
24.145	m/z 77(100), 108, 121,150	1258		6,56	6,35	0,94	7,39	10,83	5,71
25.490	(2E,4Z)-decadienal	1286	1292	0,96	1,38	tr	0,79	1,04	0,89
26.485	p-vinilguaiaicol	1307	1309	-	-	-	-	-	-
26.560	(2E,4E)-decadienal	1309	1315	2,85	4,99	0,88	3,50	4,10	6,01
26.760	m/z 162(100), 133, 105,77	1313		-	-	tr	tr	1,33	tr
27.835	m/z 43(100),84, 55, 125	1336		0,86	1,29	0,50	1,28	1,22	2,27
28.385	m/z 67(100), 82, 107	1348		0,56	1,25	tr	1,22	1,02	1,55
28.520	eugenol	1351	1356	0,15	-	tr	-	0,49	0,46
28.655	geranic Ácido gerânico	1354	1355	-	-	tr	-	-	-
28.725	γ -nonalactona	1355	1358	0,45	0,66	tr	0,51	0,44	0,82
29.340	α -copaeno	1368	1374	0,44	-	-	-	0,37	-
29.705	(E)- β -damascenona	1376	1383	0,59	0,29	tr	0,24	0,42	0,39
30.040	β -elemeno	1383	1389	-	0,32	-	0,25	-	-
30.765	NI	1399		0,18	tr	tr	tr	tr	tr
31.050	(E)- β -damascona	1406	1413	tr	tr	tr	tr	tr	tr
31.325	(E)-cariofileno	1412	1417	1,27	1,20	tr	1,15	1,04	1,70
31.650	(E)- α -ionona	1419	1428	0,30	tr	0,29	tr	0,45	tr
32.005	benzoato do isoamila	1428	1433		0,28	-	-	-	-
32.660	geranilacetona	1443	1453	0,38	0,38	0,34	0,41	0,50	0,69
33.675	benzoato de pentila	1466	1476		0,38	-	-	-	-
33.830	benzoato de prenila	1469	1485		0,47	-	-	-	-
34.220	(E)- β -ionona	1478	1487	0,97	1,32	1,14	1,19	1,40	2,22
34.615	NI	1487		0,16	-	tr	tr	-	-
34.725	tiglato de benzila	1490	1497		-	-	-	-	-
35.030	(E,E)- α -farnesene	1497	1505	5,10	1,14	1,83*	0,33*	0,97*	tr
35.105	tridecanal	1499	1509	-	-	*	tr*	tr*	tr
35.630	m/z 83(100), 111(40)	1511		0,91	1,29	1,39	2,15	2,10	3,56
35.790	δ -cadineno	1515	1522	tr*	tr*	tr*	tr*	tr*	tr
35.875	m/z 124(100), 137,55,180	1517		0,99	1,64	0,90	1,29	1,13	2,30
36.190	m/z 137(100), 194	1525		0,40		0,48	0,55	0,56	1,19
37.075	m/z 111(100),43, 137,180	1546		0,24	-	-	-	tr	1,00
37.450	(E)-nerolidol	1555	1561	0,35	0,32	tr	tr	tr	tr
37.830	benzoato de (3Z)-hexenila	1564	1565	1,83	5,61	1,01	0,53	0,41	0,64
38.035	benzoato de hexila	1569	1579	1,20	3,45	1,22	0,65	0,36	0,64
38.395	óxido de cariofileno	1578	1582	-	-	-	-	tr	tr
39.300	tetradecanal	1600	1611	0,76	0,54	1,46	1,34	1,00	1,39
40.605	cariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol	1633	1639		-	-	-	-	tr

41.630	salicilato de (3Z)-hexenila	1659	1670		0,27	-	-	-	-
41.825	1-tetradecanol	1664	1671	0,20	-	0,47	0,28	-	tr
43.360	pentadecanal	1704	1717	11,55	9,02	22,31	23,13	17,85	27,25
43.820	NI	1716		0,23	-	tr	-	tr	tr
43.320	ácido tetradecanóico	1756	1758		-	-	-	-	-
45.370	benzoato de benzila	1757	1759	0,15	0,35	tr	-	0,37	tr
46.200	m/z 79(100), 67, 41, 108	1779		0,67	tr	0,84	0,40	0,43	tr
47.030	hexadecanal	1802	1811	0,18	tr	0,32	0,26	tr	tr
48.110	hexahidrofarnesil acetona	1832	1845	0,93	0,38	1,20	0,56	1,15	1,12
50.635	heptadecanal	1903	1922	0,57	0,35	0,93	1,09	0,98	1,50
50.850	hexadecanoato de metila	1910	1921	0,25	tr	0,41	tr	0,45	tr
51.905	pimaradieno	1941	1948	-	-	-	-	-	-
52.565	ácido hexadecanóico	1961	1959	-	0,38	-	1,44	tr	1,26
52.550	sandaracopimaradieno	1960	1968	-	-	-	-	-	-
54.410	NI	2016			tr	-	-	-	-
55.235	kaur-16-eno	2041	2042	0,71	-	0,59	-	0,57	-
56.450	linoleato de metila	2077	2095	0,32	0,55	0,59	0,37	0,53	0,63
56.655	linolenato de metila	2084	2084	0,15	0,56	0,63	tr	0,45	0,50
58.245	ácido linoleico	2148	2132	1,17	15,48	1,99	9,39	2,05	0,61
59.015	NI	2184		-	0,53	0,34	-	0,87	0,88
59.345	C22	2200	2200	2,38	9,96	0,75	5,20	0,56	2,49

IR lit., índices de retenção de acordo com Adams (2007). IR exp., Índices de retenção na coluna RTX-5MS calculada de acordo com VAN DEN DOOL & KRATZ (1963).

É interessante frisar que compostos voláteis de cadeia curta não estavam presentes ao longo do tempo, sendo uma evidência da forte oxidação destes compostos. Alguns sesquiterpenos acíclicos são facilmente oxidados, por exemplo, o farneseno, principal composto na biossíntese de sesquiterpenos, apresenta-se em alta concentração nas primeiras 24h de extração e em seguida diminui a concentração. Além disso, verificou-se diversidade de aldeídos a ácidos graxos. Esses voláteis são tóxicos em alta concentração, e a presença de ácidos graxos é interessante na busca de plantas ricas em lipídios, já que os ácidos graxos são tóxicos e repelentes ao ácaro-da-necrose (Oliveira et al., 2017; Teodoro et al., 2017).

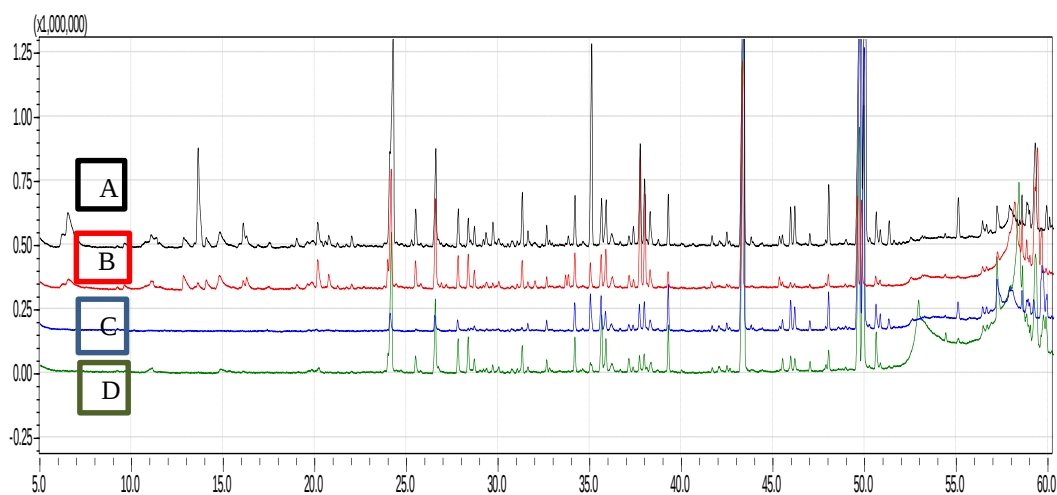


Figura 1. Cromatograma da diferença de idade de folhas de *Genipa americana*. A: folhas maduras 24 h de extração, B: folhas jovens 24 h de extração; C: folhas maduras 48 de extração, D: folhas jovens 48 h de extração

Em plantas, sabe-se que os peroxissomos são os principais locais de degradação de ácidos graxos (Gerhardt, 1993; Kindl, 1993). A oxidação dos ácidos graxos foi descrita, na qual a enzima Acil-CoAoxidase (ACX) encontrada nos peroxissomos, determina o controle do primeiro passo envolvido na β -oxidação dos ácidos graxos juntamente com as enzimas acil-

CoA desidrogenases (na mitocôndria). A presença desta enzima é um indicador específico da capacidade de β -oxidação do peroxissomo e da renovação de ácidos graxos no processo de senescência natural (Yang, John e Ohlrogge, 1989; Eccleston e Ohlrogge, 1998; Arent, Pye e Henriksen, 2008).

5.3.2 Toxicidade do OE de *G. americana* contra *A. guerreronis*

O OE de folhas de *G. americana* exibiu atividade acaricida (CL_{50} e CL_{90} de 0,41 mg mL⁻¹ e 6,43 mg mL⁻¹, respectivamente) (Tabela 2). Diversos estudos tem focado na aplicação de produtos de origem vegetal como fontes promissoras de acaricidas naturais visando o manejo integrado de pragas, em substituição aos agrotóxicos sintéticos convencionais (Araújo et al., 2012; Miresmailli e Isman, 2014). O OE das folhas de *G. americana* possui atividade acaricida ao ácaro-da-necrose. De fato, o jenipapeiro é considerado uma rica fonte de compostos bioativos com potencial para utilização no controle de pragas. No entanto, essa rubiácea ainda é pouco estudada, haja visto que possui compostos promissores para novas aplicações na agricultura.

Tabela 2. Concentrações letais (CL_{50} e CL_{90}) (mg mL⁻¹ com intervalo de confiança de 95% entre parênteses) do óleo essencial de *Genipa americana* sobre *Aceria guerreronis* com base em bioensaios de concentração-mortalidade, após 24 horas de exposição.

Tratamento	CL_{50} (95% IC) (mg.mL ⁻¹)	CL_{90} (95% IC) (mg.mL ⁻¹)	χ^2	P
Óleo essencial	0,41(0,34-0,49)	6,43 (4,59-9,82)	0,949	0,713

Valores médios obtidos (n=8 repetições com 20 ácaros adultos por repetição). As concentrações letais estimadas (CL_{50} e CL_{90}) e os valores (μ L/mL) foram estimadas usando análise probit. IC= Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, χ^2 = Qui-quadrado, P= Probabilidade ($p \leq 0.05$).

Recentemente, tem sido reportado a avaliação da toxicidade de extratos de origem vegetal em *A. guerreronis* (Oliveira et al., 2017; Sena Filho et al., 2017). Os óleos vegetais de babaçu, óleo de soja degomado e óleo de coco possuem atividade acaricida (Oliveira et al., 2017). Além disso, a bioatividade do óleo de algodão indica seu potencial para uso no controle deste importante ácaro praga. A propósito, o OE de *Vitex gardneriana* apresentou forte atividade acaricida em *A. guerreronis*, com uma CL_{50} de 0,85 mg mL⁻¹, demonstrando seu potencial como um pesticida natural (Sena Filho et al., 2017). Embora a OE *G. americana* seja promissor para o controle de *A. guerreronis*, é necessário investigar a seletividade em organismos não-alvo e a inimigos naturais.

5.3.3. Repelência do OE de *G. americana* contra *A. guerreronis*

A ação repelente da CL_{50} e CL_{90} do OE de *G. americana* aumentou em 48 horas de avaliação (Figura 2). Observou-se repelência ao ácaro-da-necrose em todos os tempos de aplicação. Para a CL_{50} , o OE causou repelência após 1h de exposição, com 70% dos ácaros preferindo a área não-tratada e, após 24 h, esta percentagem aumentou para 73%. A mesma percentagem foi observada em 48 h. Similarmente, a CL_{90} repeliu 73% dos ácaros após 1h de exposição, aumentando para 76% após 24h e para 81% após 48h. Estes dados confirmam o fato de que os compostos presentes no OE são efetivos na redução da infestação desta praga, cujo controle é dificultado (Galvão et al., 2012; Sousa et al., 2017; Calvet et al., 2018).

Diversos estudos tem reportado atividade acaricida de óleos essenciais em ácaros fitófagos, comprovando as propriedades de toxicidade e repelência (Pontes et al., 2007; Moraes et al., 2012; Paes et al., 2015; Neves et al., 2016; Moraes et al., 2017). Teodoro et al. (2017) relatam que as atividades repelentes em *A. guerreronis* são atribuídas aos ácidos linoleico e

oleico presentes no óleo de semente de algodão. Neste estudo, os compostos majoritários do OE contribuíram para o efeito repelente observado.

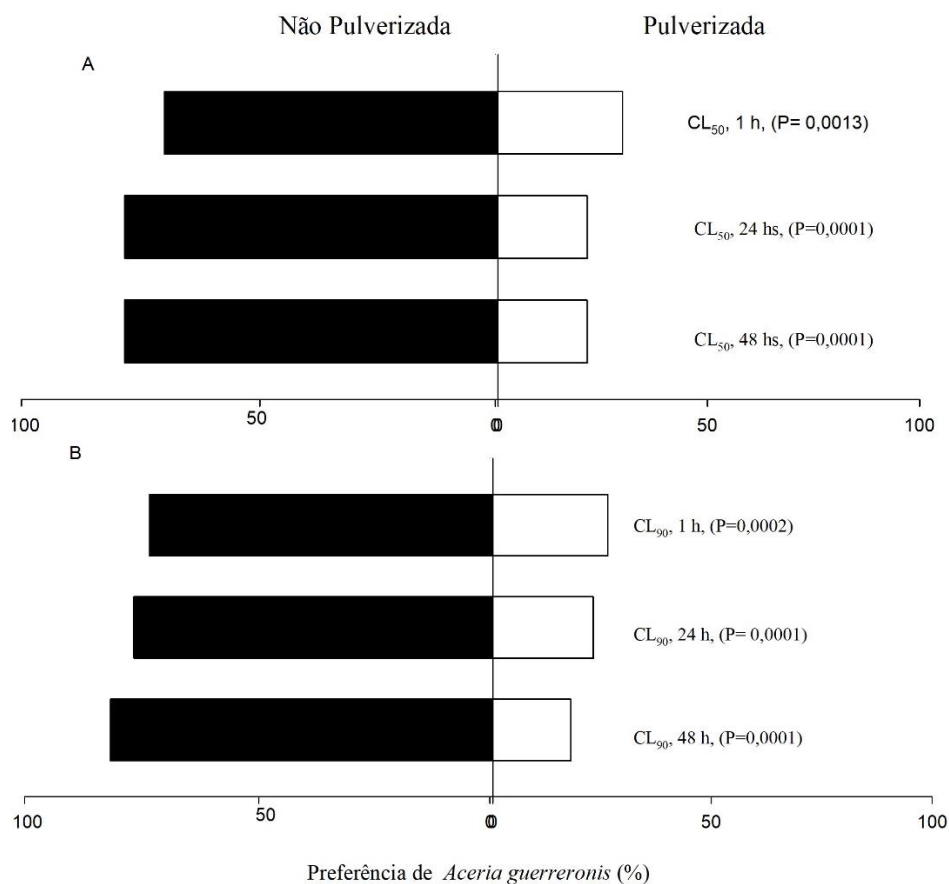


Figura 2. Repelência da CL₅₀ (A) e CL₉₀ (B) do óleo essencial de folhas de *Genipa americana* ao ácaro-da-necrose, *Aceria guerreronis*, após 1, 24 e 48 horas de pulverização. Barras pretas indicam áreas de controle não tratadas e barras brancas denotam áreas tratadas.

5.4. Conclusões

Esses resultados indicam que o OE das folhas de jenipapeiro pode ser usado para diminuir a infestação de *A. guerreronis* em plantações de coqueiro. Mais estudos em campo, bem como informações sobre efeitos subletais e seletividade são necessários. O OE obtido de folhas de *G. americana* é repelente e tóxico para *A. guerreronis*, tem potencial para o desenvolvimento de acaricidas naturais e pode contribuir para futuros programas de manejo integrado de pragas.

5.5. Referências Bibliográficas

- Adams, RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Carol Stream, IL: Allured Publ Corp 2007.
- Alves JSF, Medeiros LA, Fernandes-Pedrosa MF, Araújo RM, Zucolotto SM. Iridoids from leaf extract of *Genipa americana*. *Brazilian J Pharmacogn* 2017; 27: 641–644.
- Araújo, MJC, Câmara, CAG, Born FS, Moraes MM, Badji CA. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and Its components against *Tetranychus urticae*. *Exp Appl Acarol* 2012; 57: 139–155.
- Arent S, Pye VE, Henriksen, A. Structure and function of plant acyl-CoA oxidases. *Plant Physiol Biochem* 2008; 46: 292-301.

- Bailão EFLC, Devilla IA, Conceição EC, Borges LL. Bioactive compounds found in Brazilian Cerrado fruits. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 23760–23783.
- Bentes AS, Mercadante AZ. Influence of the stage of ripeness on the composition of iridoids and phenolic compounds in genipap (*Genipa americana* L.). *J Agric Food Chem* 2014; 62: 10800–10808.
- Calvet ÉC, Lima DB, Melo JWS, Gondim-Junior MGC. Chemosensory cues of predators and competitors influence search for refuge in fruit by the coconut mite *Aceria guerreronis*. *Exp Appl Acarol* 2018; 74: 249–259.
- Conceição AO, Rossi MH, Oliveira FF, Takser L, Lafond J. *Genipa americana* (Rubiaceae) fruit extract affects mitogen-activated protein kinase cell pathways in human trophoblast-derived bewo cells: implications for placental development. *J Med Food* 2011; 14: 483–494.
- Eccleston VS, Ohlrogge JB. Expression of lauroyl-acyl carrier protein thioesterase in *Brassica napus* seeds induces pathways for both fatty acid oxidation and biosynthesis and implies a set point for triacylglycerol accumulation. *Plant Cell* 1998; 10: 613–622.
- Galvão AS, Melo JWS, Monteiro VB, Lima DB, Moraes GB, Gondim-Junior MGC. Dispersal strategies of *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a coconut pest. *Exp Appl Acarol* 2012; 57: 1–13.
- Gerhardt B. Catabolism of fatty acids (a- and b-oxidation). In TS Moore, ed, *Lipid Metabolism in Plants*. CRC Press, Boca Raton, FL; 1993.
- Hassan SA, Bigler F, Bogenschütz FH, Brown JU, Firth SI, Huang P, Ledieu MS, Naton, Oomen EPA, Overmeer WPJ. Results of the second joint pesticide testing programme by the IOBC/WPRS-Working group “Pesticides and beneficial arthropods. *Entomophag* 1994; 39: 107–119.
- Kindl H. Fatty acid degradation in plant peroxisomes: function and biosynthesis of the enzymes involved. *Biochimie* 1993; 75: 225–230.
- Lawson-Balagbo LM, Gondim-Junior MGC, Moraes GJ, Hanna R, Schausberger P. Exploration of the acarine fauna on coconut palm in Brazil with emphasis on *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and Its natural enemies. *Bull Entomol Res* 2008; 98: 83–96.
- Lima DB, Melo JWS, Gondim-Junior MGC, Moraes GJ. Limitations of *Neoseiulus baraki* and *Proctolaelaps bickleyi* as control agents of *Aceria guerreronis*. *Exp Appl Acarol* 2012; 56: 233–246.
- Linstrom, P.J. and Mallard, W.G., Eds., (2005). NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg.
- Melo JWS, Lima DB, Pallini A, Oliveira JEM, Gondim-Junior MGC. Olfactory response of predatory mites to vegetative and reproductive parts of coconut palm infested by *Aceria guerreronis*. *Exp Appl Acarol* 2011; 55: 191–202.
- Melo JWS, Lima DB, Sabelis MW, Pallini A, Gondim-Junior MGC. Host finding behaviour of the coconut mite *Aceria guerreronis*. *Exp Appl Acarol* 2014; 64: 445–454.
- Miresmailli S, Isman MB. Botanical insecticides inspired by plant – Herbivore chemical interactions. *Trends Plant Sci* 2014; 19: 29–35.
- Moraes MM, Camara ACG, Santos ML, Fagg CW. Essential oil composition of *Eugenia langsdorffii* O. Berg.: Relationships between some terpenoids and toxicity against *Tetranychus urticae*. *J Braz Chem Soc* 2012; 23: 1647–1656.
- Moraes MM, Camara CAG, Silva MMC. Comparative toxicity of essential oil and blends of selected terpenes of *Ocotea* species from pernambuco, Brazil, against *Tetranychus urticae* Koch. *An Acad Bras Cienc* 2017; 83: 1417–1429.
- Moreira JOT, Nascimento ARP. Avaliação da eficiência de acaricidas isolados e em mistura no controle do ácaro-da-necrose-do-coqueiro *Aceria guerreronis* Keifer 1965 (Prostigmata: Eriophyidae). *Rev Bras Frutic* 2002; 24: 72–76.
- Navia D, Gondim-Junior MGC, Aratchige NS, Moraes GJ. A review of the status of the coconut mite, *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae), a major tropical mite pest. *Exp Appl Acarol* 2013; 59: 67–94.

- Neves RCS, Camara CAG. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oils from *Vitex agnus-Castus* L. (Verbenaceae) and selected monoterpenes. *An Acad Bras Cienc* 2016; 88: 1221–1233.
- Nogueira FA, Nery PS, Morais-Costa F, Oliveira FNJF, Martins ER, Duarte ER. Efficacy of aqueous extracts of *Genipa americana* L. (Rubiaceae) in inhibiting larval development and eclosion of gastrointestinal nematodes of sheep. *J Appl Anim Res* 2014; 42: 356–360.
- Oliveira NNFC, Galvão SA, Amaral EA, Santos AWO, Sena-Filho JG, Oliveira EE, Teodoro AV. Toxicity of vegetable oils to the coconut mite *Aceria guerreronis* and selectivity against the predator. *Exp Appl Acarol* 2017; 72: 23–34.
- Omena CMB, Valentim IB, Guedes GS, Rabelo LA, Mano CM, Bechara EJH, Sawaya ACHF, Trevisan MTS, Costa JG, Ferreira RCS, Sant’Ana AEG, Goulart MOF. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits: antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities in fruits. *Food Res Int* 2012; 49: 334–344.
- Ono M, Ishimatsu N, Masuoka CN, Yoshimitsu H, Tsuchihashi R, Okawa M, Kinjo J, Ikeda T, Nohara T. Three new monoterpenoids from the fruit of *Genipa americana*. *Chem Pharm Bull* 2007; 55: 632–634.
- Paes JPP, Rondelli VM, Costa AV, Vianna UR, Queiroz VT. Caracterização química e efeito do óleo essencial de erva-de-santa-maria sobre o ácaro-rajado de morangueiro. *Rev Bras Frutic* 2015; 37: 346–354.
- Pontes WJT, Oliveira JCS, Câmara CAGO, Gondim-Junior MGC, Oliveira JV, M. O. E. Schwartz MOE. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopia sericea* sobre o ácaro rajado [*Tetranychus urticae* KOCH]. *Quim Nov* 2007; 30: 838–841.
- Sá FP, Souza FVD, Silva, AVC, Lédo AS. Encapsulamento, crioproteção e desidratação na capacidade regenerativa de ápices caulinares de *Genipa americana*. *Ciênc Rural* 2015; 45: 1939–1945.
- Sena Filho JG, Xavier HS, Barbosa Filho JM, Durringer J M. A chemical marker proposal for the *Lantana* genus: Composition of the essential oils from the leaves of *Lantana radula* and *L. canescens*. *Nat Prod Commun* 2010; 5: 635–640.
- Sena-Filho JG, Barreto IC, Soares-Filho AO, Nogueira PCL, Teodoro AV, Silva AVC, Xavier HS, Rabbani ARC, Spakowicz DJ, Durringer JM. Volatile metabolomic composition of *Vitex* species: Chemodiversity insights and acaricidal activity. *Front Plant Sci* 2017; 8: 1–9.
- Silva ACB, Teodoro AV, Oliveria EE, Rêgo AS, Silva RR. Toxicity of neem oil to the cassava green mite *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). *Chil. J. Agric. Res.* 2013, 73, 315–319. doi: 10.4067/S0718- 58392013000300016
- Siriwardena PHAP, Fernando LCP, Peiris TSGA. New method to estimate the population size of coconut mite, *Aceria guerreronis*, on a coconut. *Exp Appl Acarol* 2005; 37: 123–129.
- Sousa ASG, Argolo PS, Gondim-Junior MGC, Moraes GJ, Oliveira AR. Influence of fruit age of the Brazilian green dwarf coconut on the relationship between *Aceria guerreronis* population density and percentage of fruit damage. *Exp Appl Acarol* 2017; 72: 329–337.
- Souza IV, Gondim-Junior MGC, Ramos ALR, Santos EA, Ferraz MIF, Oliveira AR. Population dynamics of *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and other mites associated with coconut fruits in Una, State of Bahia, Northeastern Brazil. *Exp Appl Acarol* 2012; 58: 221–233.
- Teodoro AV, Pallini A, Oliveira C. Sub-lethal effects of fenbutatin oxide on preylocation by the predatory mite *Iphiseiodes zuluagai* (Acari: Phytoseiidae). *Exp Appl Acarol* 2009; 47: 293–299.
- Teodoro AV, Silva MDJDS, Sena-Filho JG, Oliveira EE, Galvão AS, Silva SS. Bioactivity of cottonseed oil against the coconut mite *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and side effects on *Typhlodromus ornatus* (Acari: Phytoseiidae). *Syst Appl Acarol* 2017; 22: 1037–1047.
- Van Den Dool H, and Kratz P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *J. Chromatogr* 1963, 11, 463–471. doi: 10.1016/S0021-9673(01) 80947-X.

Yang Z, John B, Ohlrogge JB. Turnover of Fatty Acids during Natural Senescence of Arabidopsis, Brachypodium, and Switchgrass and in Arabidopsisb-Oxidation Mutants. *The Plant physiology* 2009, 150:1981-1989.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato metanólico das folhas de *G. americana* possui efeito acaricida após 24 horas de exposição, repelente nas concentrações testadas e possui baixa persistência ao ácaro-da-necrose, com efeito até 42 horas de incubação.

O óleo essencial obtido de folhas de *G. americana* possui efeito acaricida após 24 horas de exposição e é repelente ao ácaro-da-necrose nas concentrações testadas. Foi possível identificar álcoois, aldeídos, mono e sesquiterpenos na composição química do óleo essencial das folhas jovens e maduras do jenipapeiro. Foi reportado a presença de diterpenos em folhas maduras e a oxidação lipídica nas folhas jovens, indicando a expressão de diterpenos sintases e de oxidases, respectivamente. Informações adicionais da expressão de oxidases via qPCR e perfil lipídico de ácidos graxos são necessários para elucidar estes mecanismos oxidativos.

A quimiodiversidade em iridoides e terpenoides presente no extrato metanólico e no óleo essencial de *G. americana* pode contribuir com compostos bioativos para serem utilizados no controle da infestação do ácaro-da-necrose. Estas informações irão auxiliar futuros programas de manejo integrado de pragas, além de contribuir com informações para a conservação da espécie. Esta investigação evidenciou que os extratos do jenipapeiro são promissores como acaricida botânico eficiente no controle de *A. guerreronis*, minimizando assim, os impactos ambientais da utilização indiscriminada de acaricidas sintéticos. Espera-se que, em futuro próximo, o óleo essencial e os extratos de *G. americana* possam ser aplicados para o controle de pragas.