

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E  
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

RAFAELA BARBOSA PARES

ATIVIDADE ACARICIDA DE PLANTAS DA FAMÍLIA ANNONACEAE PARA  
*Dermanyssus gallinae* (De Geer) (ACARI: DERMANYSSIDAE)

CASCADEL-PR

Fevereiro/2018

RAFAELA BARBOSA PARES

ATIVIDADE ACARICIDA DE PLANTAS DA FAMÍLIA ANNONACEAE PARA  
*Dermanyssus gallinae* (De Geer) (ACARI: DERMANYSSIDAE)

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais

Área de Concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Luis Francisco Angeli Alves

Co-orientador: Dejane Santos Alves

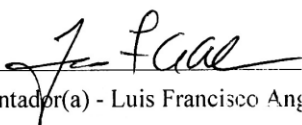
CASCADEL-PR

Fevereiro/2018

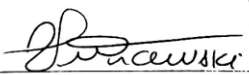
**RAFAELA BARBOSA PARES**

**Atividade acaricida de plantas da família *Annonaceae* para *Dermanyssus gallinae*.**


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, área de concentração Ciências Ambientais, linha de pesquisa Biologia Aplicada e Indicadores de Qualidade No Ambiente Terrestre, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

  
Orientador(a) - Luis Francisco Angeli Alves

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

  
Vanda Pietrowski

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

  
DeJane Santos Alves

Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)

  
Cristhiane Rolde

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ - MEDIANEIRA (UTFPR)

**Realizada em 20 de fevereiro de 2018**

**Local da defesa: Unioeste, Prédio de Salas de Aula, sala 58, Cascavel-PR.**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Pares, Rafaela Barbosa  
Atividade acaricida de plantas da família Annonaceae para *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) / Rafaela Barbosa Pares; orientador(a), Luis Francisco Angeli Alves; coorientador(a), Dejjane Santos Alves, 2018. 95 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, 2018.

1. Controle alternativo de pragas. 2. Extratos vegetais . 3. Ácaro-vermelho-da-galinha . I. Alves, Luis Francisco Angeli . II. Alves, Dejjane Santos. III. Título.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO GERAL .....	10
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	12
Biologia e importância de <i>Dermanyssus gallinae</i> .....	12
Controle Convencional.....	14
Métodos de controle de baixo impacto ambiental: Inseticidas botânicos.....	16
Família Annonaceae.....	19
<i>Xylopiia sericea</i> .....	20
<i>Xylopiia emarginata</i> .....	21
<i>Duguetia lanceolata</i> .....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
Atividade acaricida de plantas da família Annonaceae para <i>Dermanyssus gallinae</i> (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae).....	39
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	41
INTRODUÇÃO.....	42
MATERIAL E MÉTODOS.....	44
Material botânico.....	44
Obtenção dos extratos vegetais e frações.....	46
Obtenção dos ácaros.....	46
Ensaio de fumigação.....	47
Ensaio de contato.....	48
Determinação da resposta tempo-concentração-mortalidade.....	48
Análise exploratória do perfil metabólico de <i>X. emarginata</i> .....	49

Análise estatística.....	50
RESULTADOS.....	51
Ensaio de fumigação.....	51
Ensaio de contato.....	51
Determinação da resposta tempo-concentração-mortalidade.....	53
Análise exploratória do perfil metabólico de <i>X. emarginata</i> .....	61
DISCUSSÃO.....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

## RESUMO

*Dermanyssus gallinae* é considerado o mais importante ectoparasita hematófago, associado à avicultura de postura. Seu controle atualmente é realizado empregando-se principalmente produtos químicos, e em sua maioria, sem registro frente aos órgãos competentes. Como consequência, verifica-se a seleção de populações de ácaros resistentes aos compostos e relatos de resíduos acaricidas em ovos. Assim, a busca por alternativas e, neste caso, compostos produzidos por plantas, os quais possam ser empregadas para o seu manejo, se faz necessária. Portanto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a atividade acaricida de frações solúveis em diclorometano, provenientes de extratos metanólicos, de *Xylopiá sericea* (cascas do caule e frutos), *X. emarginata* (cascas do caule) e *Duguetia lanceolata* (cascas do caule) frente a *D. gallinae*. Adicionalmente, a fração mais ativa foi caracterizada quimicamente. As espécies testadas não apresentaram ação fumigante para *D. gallinae*. Entretanto, todas as frações em aplicação tópica foram tóxicas para o ácaro. Os resultados mais promissores foram verificados para a fração das cascas do caule de *X. emarginata*, com tempo letal mediano (TL<sub>50</sub>) e concentração letal mediana (CL<sub>50</sub>), de apenas 14 h e 331,769 µg/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Ressalta-se que a concentração necessária para causar mortalidade em 50% da população de ácaros (CL<sub>50</sub>) foi 73% menor em relação ao controle positivo (cipermetrina). A análise química exploratória da fração de *X. emarginata*, empregando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (CLAE-EM/EM) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de <sup>1</sup>H) revelou a presença de sesquiterpenos como classe dos compostos

majoritários, sugerindo que pertença à essa classe química o metabólito responsável pela atividade acaricida.

PALAVRAS-CHAVE: ácaro-vermelho-da-galinha, extratos vegetais, controle alternativo, *Xylopiá sericea*, *Xylopiá emarginata*, *Duguetia lanceolata*



Acaricidal activity of plants of the Annonaceae family for *Dermanyssus gallinae*

(De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae)

ABSTRACT

*Dermanyssus gallinae* is considered the most important hematophagous ectoparasite in poultry laying. Currently, its propagation control is only performed with chemical products, and in the majority, without registration in front of the competent organs. As a result there is the selection of resistant populations of mites and acaricidal residues in eggs. Thus, the research for alternatives, in this case, compounds produced by plants, which can be used to manage them, is necessary. Therefore, the object of this paper was to evaluate the acaricidal activity of soluble fractions in dichloromethane, obtained from methanolic extracts of *Xylopia sericea* (stem and fruit peels), *X. emarginata* (stem bark) and *Duguetia lanceolata* (stem bark) applied in *D. gallinae*. Farther, the most active fraction was chemically characterized. The species tested did not present fumigant activity for *D. gallinae*. However, all fractions on topical application were toxic to the mite. The most promising results were verified for the fraction of *X. emarginata* stem bark, with median lethal time (LT<sub>50</sub>) and median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) of only 14 h and 331,769 µg/cm<sub>2</sub>, respectively. It is noteworthy that the concentration required to cause mortality in 50% of the mite population (LT<sub>50</sub>) was 73% lower than the positive control (cypermethrin). The exploratory chemical analysis of the fraction of *X. emarginata* (high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry - HPLC-MS/MS) and hydrogen nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H NMR) revealed the presence of sesquiterpens as the major compound class,

suggesting that this chemical class belongs to the metabolite responsible for acaricidal activity.

KEY WORDS: poultry red mite, plant extracts, alternative control, *Xylopi*a *sericea*, *Xylopi*a *emarginata*, *Duguetia lanceolata*

## INTRODUÇÃO GERAL

O setor avícola nacional apresenta contínuo crescimento. A produção de ovos de galinha no primeiro trimestre de 2017 foi de 788,26 milhões de dúzias, 4,1% maior que a produção no primeiro trimestre de 2016. Na conjuntura mundial, o Brasil ocupa o 7º lugar no *ranking* de produção de ovos de galinha e, neste contexto, o estado de São Paulo tem maior importância, sendo responsável por 29,7% da produção. O estado do Paraná, por sua vez está em terceiro lugar neste *ranking*, produzindo o correspondente a 8,9% da produção nacional (SEAB, 2013; IBGE, 2017).

O investimento em novas tecnologias que possibilitam ganhos de produtividade, em menor tempo, é fundamental para manter o crescimento no setor. Contudo, a modernização nos sistemas avícolas pelo adensamento populacional das aves, somado às características favoráveis de temperatura e umidade, têm promovido o aumento na população de artrópodes pragas.

Nesse contexto, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae), popularmente conhecido como ácaro-vermelho-da-galinha, é um ectoparasita hematófago, considerado o mais importante associado à avicultura de postura, devido à redução na postura de aves parasitadas e à sua capacidade de atuar como vetor de doenças bacterianas e virais (MORO; CHAUVE e ZENER, 2005; DE LUNA et al., 2008; PRITCHARD et al., 2015; FLOCHLAY; THOMAS e SPARAGANO, 2017). Além disso, as aves podem apresentar alterações imunológicas, estresse elevado e alterações comportamentais, e ainda, em grandes infestações podem levar à anemia ou mesmo à morte das aves (TAYLOR; COOP e WALL, 2007).

O controle é comumente realizado através de acaricidas sintéticos, muitos dos quais sem registro nos órgãos competentes ou até mesmo são proibidos para esse fim. O uso indiscriminado dessas substâncias têm levado à seleção de populações de ácaros resistentes aos compostos, e ainda, tem elevado o risco de intoxicação das aves e produtor, bem como a presença de resíduos nos ovos (HAMSCHEER et al., 2003; MARANGI et al., 2009; FLOCHLAY; THOMAS e SPARAGANO, 2017).

Por outro lado, a utilização de produtos de origem vegetal tem demonstrado ser promissora, com a vantagem de não deixar resíduos no ambiente ou alimento e, muitas das vezes, apresentarem baixa toxicidade a mamíferos (VIEIRA; MAFEZOLI e BIAVATTI, 2001; GEORGE et al., 2014; GORJI; GORJI e RAJABLOO, 2014; RAJABPOUR; MASHHADI e GHORBANI, 2018). Nesse sentido, pesquisas voltadas à descoberta de espécies vegetais com potencial acaricida tornam-se fundamentais e constituem o primeiro passo para obtenção de produtos naturais que possam ser empregados em sistemas avícolas.

Entre as famílias botânicas com reconhecida atividade acaricida, se destaca a família Annonaceae. Estudos recentes relatam seu potencial devido à presença alcaloides, terpenoides, flavonoides e acetogeninas em seu arsenal metabólico (MOREIRA et al., 2013; ISMAN; SEFRIN, 2014), compostos reconhecidamente ativos contra artrópodes.

Especificamente relacionado ao ácaro-vermelho, sabe-se da sua suscetibilidade aos compostos de origem vegetal (GEORGE et al., 2008), contudo, inexistem informações sobre estudos com espécies desta família botânica quanto à atividade acaricida ao ácaro-vermelho.

Assim, frente ao potencial de produtos vegetais, como modelo para o desenvolvimento de novos produtos, pouco se conhece sobre o potencial de utilização das plantas e seus compostos biologicamente ativos. Além disso, atualmente existe um crescente interesse por parte da indústria no desenvolvimento de produtos naturais, que venham a contribuir para a segurança alimentar e minimizar os problemas decorrentes do uso excessivo de produtos químicos na produção animal, justificando o desenvolvimento de mais pesquisas.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### Biologia e importância de *Dermanyssus gallinae*

*Dermanyssus gallinae*, conhecido popularmente como ácaro-vermelho-da-galinha, ácaro-roxo ou piolho-de-galinha, é hematófago e ectoparasita de aves. Passa a maior parte do seu ciclo de vida fora do hospedeiro, procurando-os principalmente à noite para se alimentar. Durante o dia, abrigam-se em fendas ou rachaduras, locais onde ocorre um acúmulo de penas e poeira (TAYLOR; COOP e WALL, 2007).

Os adultos podem medir até 1 mm de comprimento, apresentam o corpo branco-acinzentado que se torna avermelhado ou negro quando ingurgitado (TAYLOR; COOP e WALL, 2007). Seu ciclo de vida (ovo – adulto) demora em média 7 dias, período em que passam pelas fases de larva, protoninfa, deutoninfa e adulto (TUCCI; GUIMARÃES, 1998).

Possui distribuição cosmopolita e representa um dos principais problemas relacionados à avicultura mundial (ROY; CHAUVE, 2010; PRITCHARD et al.,

2015). Infestações desses artrópodes levam a problemas de saúde nas aves que conseqüentemente refletem na produção de ovos (FLOCHLAY; THOMAS e SPARAGANO, 2017).

Além da redução nas posturas, às aves parasitadas podem apresentar anemia, e em casos mais graves pode levar à morte. Alterações no sistema imunológico devido ao parasitismo também são observadas e podem deixar as aves mais suscetíveis à doenças. Conforme estudo realizado por Kowalski e Sokot (2009), aves parasitadas por *D. gallinae* apresentam diminuição nos níveis de  $\gamma$ - globulina, sintoma que se relaciona com a queda da imunidade mediada por estresse somático crônico. Adicionalmente, os autores verificaram aumento na produção de corticosterona e adrenalina, relacionados a estresse somático e psicossomático, respectivamente.

Também foi observado aumento na frequência de determinados comportamentos, como o agitar da cabeça, banho de areia, picacismo e limpeza das penas, principalmente à noite, período destinado ao descanso das aves, que passam a maior parte deste tempo tentando se livrar dos ácaros (PEDROSO-DE-PAIVA, 1996; KILPINEN et al., 2005).

Além disso, esse ácaro pode também servir como vetor de doenças virais e bacterianas (MORO; CHAUVE e ZENNER, 2005; DE LUNA et al., 2008), a exemplo da Salmonelose, uma das principais causas de intoxicações alimentares. Já foi constatado que *D. gallinae* pode ser infectado com *Salmonella enteritidis* através do repasto sanguíneo ou contato cuticular e pode transmitir a outras aves, comprovando a capacidade de *D. gallinae* atuar como vetor de *S. enteritidis* (MORO; CHAUVE e ZENNER, 2007; MORO et al., 2009).

Eventualmente, esse ácaro pode também parasitar outras espécies de aves, animais domésticos e até mesmo o homem. Esse fato auxilia a disseminação de *D. gallinae* dentro e entre aviários (ROSEN; YERUHAM e BRAVERMAN, 2002; MIGNON; LOSSON, 2008; ABD et al., 2009; COLLGROS et al., 2013).

### Controle Convencional

Em relação ao controle de *D. gallinae*, boas práticas de higiene são recomendadas para prevenir a instalação e persistência dos ácaros nos aviários. Assim, os equipamentos e todo o alojamento das aves devem ser limpos periodicamente e na ausência das aves, lavados e tratados com produtos acaricidas (TAYLOR; COOP e WALL, 2007).

Nesse sentido, Lammers et al. (2017) ressaltam vários estudos que apontam para o controle associando a remoção mecânica a outra tática de controle, como químico, físico ou biológico.

Com relação ao controle químico, atualmente são utilizados produtos pertencentes aos grupos dos piretroides, carbamatos e organofosforados. Apesar de eficazes, no sentido de reduzir a população de ácaros, a utilização de acaricidas sintéticos apresenta riscos relacionados à ação sobre organismos não-alvo, seleção de populações resistentes, além do risco de intoxicação das aves e do produtor (ZEMAN; ZELEZNY, 1985; BEUGNET et al., 1997; NORDENFORS et al., 2001; MARANGI et al., 2009; REZENDE et al., 2013). Contudo, o maior problema associado ao uso indiscriminado de produtos químicos é a presença de resíduos nos ovos (MARANGI et al., 2012). Isto porque, muitos produtos

utilizados para o controle desse ácaro não são oficialmente registrados, nos órgãos competentes, ou são até mesmo proibidos (FLOCHLAY; THOMAS e SPARAGANO, 2017).

A presença de resíduos de acaricida à base de carbamato em ovos foi constatada por Hamscher et al. (2003), os quais observaram a persistência de resíduos até 39 dias após pulverização do aviário com o produto. Em outro estudo, Marangi et al. (2012) comprovaram a presença de resíduos de acaricidas químicos proibidos ou não registrados para utilização na União Européia, nos órgãos e tecidos de galinhas poedeiras, sendo 82,2% das aves foram positivas para o princípio ativo carbaril e 8,8% foram positivas para permetrina.

A presença de resíduo se tornou mais evidente em meados de 2017, quando a suspeita de ovos contaminados com fipronil, um produto fitossanitário não permitido para uso em animais destinados à cadeia alimentar, levou ao impedimento de comercialização dos produtos oriundos das fazendas afetadas em diversos estados da União Europeia (EUROPEAN COMMISSION, 2017).

Devido à problemática relacionada aos produtos químicos, existe hoje no mercado um número muito limitado de acaricidas destinados ao controle de *D. gallinae*. E, no Brasil, isso não é diferente. Segundo o Compêndio de Produtos Veterinários (2018), existem apenas 3 produtos para este fim, sendo estes a base de propoxur, cipermetrina e carbaril, mesmos compostos proibidos na União Européia devido aos riscos ambientais e à saúde humana (HAMSCHEER et al., 2003; MARANGI et al., 2012).

Além disso, verifica-se que a utilização de acaricidas sintéticos trazem resultados apenas em curto prazo, sendo comum que a população de ácaros volte a crescer pouco tempo depois. A ineficiência de um controle mais duradouro



está relacionada à falta da adoção de medidas auxiliares ou complementares de manejo populacional, pois devido ao seu comportamento há dificuldade de se alcançar todos os ácaros durante a aplicação de acaricidas. Também se relacionam às falhas durante a aplicação e o uso de concentração e volumes incorretos. E ainda, os acaricidas atualmente autorizados para uso em aviários de poedeiras apresentam efeito residual mais curto, em virtude dos riscos de deixar resíduos nos ovos (MUL, 2017; FLOCHLAY; THOMAS e SPARAGANO, 2017).

A falta de produtos efetivos e registrados representa um grande risco para a segurança alimentar humana, diante disso, é evidente a necessidade de desenvolvimento de novos métodos de controle para *D. gallinae*. Nesse sentido, a utilização do manejo integrado de pragas, medidas de biossegurança aprimoradas e técnicas de monitoramento, bem como a geração de novos produtos para uso em poedeiras, são fundamentais para controlar infestações desse ácaro (ABBAS et al., 2014; FLOCHLAY; THOMAS e SPARAGANO, 2017).

#### Métodos de controle de baixo impacto ambiental: Inseticidas botânicos

Nos últimos 10 anos surgiram estudos envolvendo pós inertes, inimigos naturais, derivados de plantas e vacinas como estratégias de controle do ácaro, algumas demonstram ser promissoras (MUL et al., 2009; HARRINGTON et al., 2011; REZENDE et al., 2013; SPARAGANO; GEORGE e HARRINGTON, 2014). Os derivados vegetais como os óleos essenciais e os extratos são compostos biologicamente ativos, ricos em metabólitos secundários, obtidos a partir do processamento da matéria vegetal (BALANDRIN et al., 1985; BAKKALI et al., 2008).

O nim (*Azadirachta indica*), por exemplo, apresentou ser bastante eficiente contra *D. gallinae* (LUNDH; WIKTELIUS e CHIRICO, 2005), assim como o produto comercial formulado a partir de extrato de sementes de nim, Mite-stop® (ABDEL-GHAFFAR et al., 2008; LOCHER et al., 2010).

O potencial de plantas no controle de pragas é conhecido, porém pouco explorado. Além de serem usados diretamente no controle de pragas, como o óleo de nim, os derivados vegetais, com propriedades acaricidas, podem fornecer moléculas modelo para a síntese de novos produtos (MAIA; ANDRADE, 2009).

Como exemplo, citam-se os piretroides, sintetizados a partir do piretro, composto encontrado em flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Asteraceae) (EL-WAKEIL, 2013). Também os carbamatos, que tiveram como molécula molde o alcaloide fisostigmina da planta *Physostigma venenosum* (Fabaceae) (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012). Ressalta-se ainda a nicotina, extraída de *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), que deu origem aos neonicotinoides (NAUEN et al., 2001). Mais recentemente, uma nova classe de inseticida botânico foi desenvolvida, os moduladores de receptores de rianodina, a partir da descoberta de um alcaloide isolado de *Ryania speciosa* Vahl. (Flacourtiaceae) (SATTELLE; CORDOVA e CHEEK, 2008; EL-WAKEIL, 2013).

Com relação a *D. gallinae*, diversos estudos laboratoriais vêm sendo conduzidos, tanto com óleos essenciais quanto com extratos vegetais que demonstraram alta toxicidade para o ácaro. A exemplo disso, pode-se citar Morrone et al. (2001), que verificaram atividade acaricida de espécies do gênero *Coffea* (Rubiaceae), utilizando diferentes solventes. Os extratos clorofórmicos, obtidos a partir das folhas, apresentaram maior atividade contra o ácaro, com mortalidades variando entre 73 e 100%. Kim et al. (2007) testaram a atividade

acaricida contra *D. gallinae* de 40 plantas medicinais e encontraram alta atividade das espécies *Cinnamomum camphora*, *Asarum sieboldii*, *Eugenia caryophyllata* e *Mentha arvensis*.

Também, Ebrahimi et al. (2015) constataram alta taxa de mortalidade de *D. gallinae* após exposição durante 24 horas ao extrato de folhas de *N. tabacum*. Ainda, Tabari, Youssefi e Benelli (2017) verificaram atividades tópica, repelente, fumigante e residual do óleo essencial de *Artemisia sieberi* (Asteraceae) contra *D. gallinae*. E, recentemente, Rajabpour, Mashhadi e Ghorbani (2018) avaliaram a atividade acaricida e repelente de *Conocarpus erectus* L. (Combretaceae), em preparação aquosa e etanólica contra *D. gallinae*.

Adicionalmente, trabalhos em aviários também foram realizados, e nesse sentido, Gorji, Gorji e Rajabloo (2014) avaliaram o extrato de alho, *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae), no controle de *D. gallinae*, alcançando redução de 96% da população de ácaros ao final do experimento.

Este extrato e o óleo essencial de tomilho foram avaliados por Ranjbar-Bahadori, Farhadifar e Mohammadyar (2014), que obtiveram redução na população de ácaros de 92 e 74 % na primeira e segunda amostragem, respectivamente, com extrato de alho, e 89 e 95% com óleo essencial de tomilho.

Assim, considerando a demanda por métodos de controle eficientes e seguros para controle de *D. gallinae*, o estudo de espécies vegetais com propriedades acaricidas pode levar ao isolamento de moléculas, que poderão servir como modelo para a síntese de compostos acaricidas mais seguros para o ambiente, aves e humanos.

## Família Annonaceae

Compreendendo aproximadamente 2500 espécies, distribuídas em 135 gêneros, a família Annonaceae está presente em áreas tropicais e subtropicais dos continentes americanos, africano e asiático (CHATROU et al., 2012). No Brasil, já foram relatadas 391 espécies distribuídas em 29 gêneros (MAAS; LOBÃO e RAINER, 2015).

O potencial farmacológico dessa família é conhecido e utilizado pela medicina popular há séculos, sendo relatadas propriedades anti-inflamatória (ATTIQ; JALIL e HUSAIN, 2017; SILVA et al., 2015), ansiolítica e sedativa (SOUZA et al., 2013), antimicrobiana (COSTA et al., 2013) e ainda para o tratamento de malária (FRAUSIN et al., 2014).

Com relação ao potencial para o controle de artrópodes, essa família tem sido explorada devido a gama de compostos bioativos, com destaque para as acetogeninas, que passaram a ser estudadas a partir da década de 1980 (OCAMPO; OCAMPO, 2006; KRINSKI; MASSAROLI e MACHADO, 2014). As acetogeninas atuam diretamente na cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias de artrópodes, inibindo a NADH e conseqüentemente diminuindo os níveis de ATP, causando apoptose e levando a morte (ZAFRA-POLO et al., 1996; LÜMMEN, 1998).

Existem relatos de atividade inseticida de plantas dessa família a insetos praga urbanas e agrícolas das ordens Lepidoptera, Coleoptera, Hemiptera, Diptera e Blattodea (KRINSKI; MASSAROLI e MACHADO, 2014).

Com relação às pragas agrícolas, Ansante et al. (2015) verificaram a atividade do extrato de *Annona mucosa* (Jacq.) (Annonaceae) contra *Spodoptera*

*frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A substância ativa foi isolada e identificada como sendo pertencente ao grupo das acetogenina. Similarmente, Sousa et al. (2016a) testaram extratos de diferentes espécies de anonáceas contra *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), encontrando forte atividade de *A. mucosa*, e a partir de cromatografia também apontaram acetogenina como composto majoritário.

### *Xylopiya sericea*

O gênero *Xylopiya* é composto por aproximadamente 160 espécies, distribuídas em regiões da Américas do Sul e Central, África e Ásia. Esse gênero apresenta uma vasta diversidade de metabólitos biologicamente ativos, e por essa razão, é amplamente utilizada na medicina popular brasileira (SILVA et al., 2015). Como metabólitos predominantes, possuem alcaloides, diterpenoides, esteroides e acetogeninas (MOREIRA et al., 2013) com destacada atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e antimalarial (GHANI et al., 2016)

Estudos fitoquímicos com *X. sericea* levaram ao isolamento de mono e diterpenoides a partir das sementes da planta (TAKAHASHI et al., 2001). Outros trabalhos apontam mono, sesqui e diterpenos como constituintes majoritários das raízes, ao passo que, no tronco, folhas e frutos foram encontrados mono e sesquiterpenos como compostos mais abundantes (CÂMARA; ALENCAR e SILVEIRA, 1996).

A partir de estudos com o óleo extraído desta planta, Fournier et al. (1994) verificaram moderada atividade bacteriostática e fungistática. Recentemente, Mendes et al. (2017), encontraram efeito bacteriostático e antioxidante de óleo

extraído de frutos de *X. sericea*, e análises cromatográficas apontaram sesquiterpenos como constituinte majoritário do óleo.

Alves et al. (2015) observaram presença de efeito subletal em lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo a fração solúvel em diclorometano das cascas do caule e frutos de *X. sericea*, em tal estudo, a massa corpórea das lagartas tratadas com o com o extrato foi significativamente menor, quando comparado ao controle.

Com relação à atividade acaricida, os óleos de folhas e frutos de *X. sericea* foram ativos contra *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae), com maior destaque para o óleo das folhas. Os compostos majoritários identificados nos óleos foram mono e sesquiterpenos (TELES; SELVA e GÓMES, 2007).

### *Xylopiia emarginata*

A espécie *X. emarginata* é popularmente conhecida como embira-preta, pindaíba-reta, pindaíba, e outras variações dependendo da localidade onde se encontra (LORENZI, 1992).

Estudos envolvendo essa espécie levaram ao isolamento de sesquiterpenos, hidrocarbonetos e uma cetona alifática (MOREIRA et al., 2007). Também menciona-se a presença de diterpenos (VILEGAS et al., 1991; MOREIRA; ROQUE e LAGO, 2006) e alcaloides (MOREIRA; LAGO e ROQUE, 2003). Destacam-se ainda as acetogeninas, tais como a ximarginatina, essa substância foi ainda avaliada quanto sua capacidade de inibir a cadeia respiratória mitocondrial em fígado de ratos e quanto a letalidade em *Artemisia salina* L. (Artemiidae) (COLMAN-SAIZARBITORIA et al., 2009).

Também, pode-se mencionar a atividade antiplasmodial da espécie, verificada com o emprego de extrato etanólico das folhas de *X. emarginata* (FISCHER et al., 2004) e extrato hexânico das cascas das raízes (DE MESQUITA et al., 2007). A partir do óleo extraído das folhas de *X. emarginata* foram isolados monoterpenos e sesquiterpenos (LAGO et al., 2005).

Em relação à atividade inseticida, o extrato etanólico das cascas e madeira do caule apresentou moderada atividade contra larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) (COELHO; DE PAULA e ESPÍNDOLA, 2009). Também foi verificada atividade da fração solúvel em diclorometano do extrato de cascas do caule de *D. lanceolata* contra *S. frugiperda* (ALVES et al., 2016).

### *Duguetia lanceolata*

Popularmente conhecida como pindaíba, beribá ou pinhão, pode ser encontrada no Cerrado e Floresta Atlântica, principalmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso. É uma espécie utilizada na medicina popular como anti-inflamatória, cicatrizante e antimicrobiana (MAAS et al., 2001; SOUSA et al., 2003).

Dentre as atividades biológicas desta espécie, Fischer et al. (2004) verificaram o potencial antiplasmodial de frações de alcaloides de *D. lanceolata*. Também, o extrato etanólico de *D. lanceolata* mostrou forte atividade anti-*Trypanosoma cruzi* e baixa atividade citotóxica (TEMPONE et al., 2005). As atividades antinoceptiva e anti-inflamatória foram verificadas a partir do emprego de óleo essencial de cascas do caule de *D. lanceolata* (SOUSA et al., 2004), extrato etanólico das folhas (SOUSA et al., 2008) e óleo essencial de galhos da

planta, onde foram encontrados mono e sesquiterpenos como compostos mais abundantes (SOUSA et al., 2016b).

Ainda foram descritas atividades antibacteriana e antifúngica do óleo essencial de cascas do caule da espécie, análises cromatográficas revelaram a presença de terpenos e hidrocarbonetos, destacando sesquiterpenos como composto majoritário (SOUSA et al., 2012).

A atividade inseticida do extrato etanólico de folhas de *D. lanceolata* foi reportada para *Sitophilus zeamais* (Mots.) (Coleoptera: Curculionidae) (RIBEIRO et al., 2016). Também verificaram efeitos subletais sobre *S. frugiperda*, com o emprego de extrato etanólico da planta (ANSANTE et al., 2015). Alves et al. (2016) avaliaram a atividade de frações solúveis em diclorometano do extrato metanólico de cascas do caule de *D. lanceolata* contra *S. frugiperda*, e análises metabolômicas indicaram que o de 2,4,5-trimetoxiestireno, seria responsável pela atividade inseticida. Menciona-se ainda, a atividade da fração hexânica do extrato etanólico de folhas de *D. lanceolata* contra *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae), com o isolamento de compostos aromáticos e esteróis (GONÇALVES et al., 2017).

Estudos ainda demonstraram a atividade acaricida da fração solúvel em diclorometano do extrato metanólico de cascas do caule de *D. lanceolata* contra *Tetranychus tumidus* (Banks.) (Acari: Tetranychidae) e *Tetranychus urticae* (Koch.) (Acari: Tetranychidae), e análises do perfil metabólico constataram o 2,4,5-trimetoxiestireno e a trans-asarona como constituintes majoritários (ALVES et al., 2015).



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, R. Z., COLWELL, D. D., IQBAL, Z., KHAN, A. Acaricidal drug resistance in poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and approaches to its management. **World's Poultry Science Journal**, v. 70, n. 1, p. 113-124, 2014.

ABD, A. E. H., ALLAM, K. A., METWALLY, A. M., EL, A. B. Seasonal variation of infestation rate with lice, tick and mite among rodents in certain Egyptian regions. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v.39, n.2, p.617-624, 2009.

ABDEL-GHAFFAR, G., SOBHY, H. M., AL-QURASHY, S., SEMMLER, M. Field study on the efficacy of an extract of neem seed (Mite -Stop®) against the red mite *Dermanyssus gallinae* naturally infecting poultry in Egypt. **Parasitology Research**, v.103, n.3, p.481-485, 2008.

ALVES, D. S., MACHADO, A. R. T., CAMPOS, V. A. C., OLIVEIRA, D. F., CARVALHO, G. A. Selection of Annonaceae species for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and metabolic profiling of *Duguetia lanceolata* using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Economic Entomology**, v.109, n.3, p.649-659, 2016.

ALVES, D. S., MOREJÓN, R. C., MACHADO, A. R. T., CARVALHO, G. A., PINA, O., OLIVEIRA, D. F. Atividade acaricida de frações de anonáceas para *Tetranychus tumidus* e *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) e perfil metabólito de *Duguetia lanceolata* (Annonaceae) por CG-EM. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.6, p.4119-4132, 2015.

ANSANTE, T. F., DO PRADO RIBEIRO, L., BICALHO, K. U., FERNANDES, J. B., VIEIRA, P. C., VENDRAMIM, J. D. Secondary metabolites from Neotropical

Annonaceae: Screening, bioguided fractionation, and toxicity to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial Crops and Products**, v.74, p.969-976, 2015.

ATTIQ, A., JALIL, J., HUSAIN, K. Annonaceae: Breaking the wall of inflammation. **Frontiers in pharmacology**, v.8, p.752, 2017.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oil: a review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.22, p.446-75, 2008.

BALANDRIN, M. F., KLOCKE, J. A., WURTELE, E. S., BOLLINGER, W. H. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. **Science**, v.228, n.4704, p.1154-1160, 1985.

BEUGNET, F., CHAUVE, C., GAUTHEY, M.; BEERT, L. Resistance of the red poultry mite to pyrethroids in France. **Veterinary Record**, v.140, n.22, p.577-579, 1997.

BRAIBANTE, M. E. F., ZAPPE, J. A. A química dos agrotóxicos. **Química Nova na Escola**, v.34, n.1, p.10-15, 2012.

CÂMARA, C. A. G., DE ALENCAR, J. W., SILVEIRA, E. R. Volatile Constituents of *Xylopiya sericea* St. Hill. **Journal of Essential Oil Research**, v.8, n.1, p.75-78, 1996.

CHATROU, L. W., PIRIE, M. D., ERKENS, R. H., COUVREUR, T. L., NEUBIG, K. M., ABBOTT, J. R., MOLS, J. B., MAAS, J. W., SAUNDERS, R. M. K, CHASE, M. W. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.169, n.1, p.5-40, 2012.

COELHO, A. A., DE PAULA, J. E., ESPÍNDOLA, L. S. Atividade larvicida de extratos vegetais sobre *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), em condições de laboratório. **BioAssay**, v.4, n.3, 2009.

COLLGROS, H., IGLESIAS-SANCHO, M., ALDUNCE, M. J., EXPÓSITO-SERRANO, V., FISCHER, C., LAMAS, N., UMBERT-MILLET, P. *Dermanyssus gallinae* (chicken mite): an underdiagnosed environmental infestation. **Clinical and experimental dermatology**, v.38, n.4, p.374-377, 2013.

COLMAN-SAIZARBITORIA, T., MONTILLA, L., RODRIGUEZ, M., CASTILLO, A., HASEGAWA, M. Xymarginatin: a new acetogenin inhibitor of mitochondrial electron transport from *Xylopiya emarginata* Mart., Annonaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.4, p.871-875, 2009.

COMPÊNDIO DE PRODUTOS VETERINÁRIOS – SINDAN. 2018. Disponível em: <<http://www.cpv.com.br/cpv/pesquisar.aspx>>. Acesso em: 02/01/2018.

COSTA, E. V., DUTRA, L. M., SALVADOR, M. J., RIBEIRO, L. H. G., GADELHA, F. R., DE CARVALHO, J. E. Chemical composition of the essential oils of *Annona pickelii* and *Annona salzmannii* (Annonaceae), and their antitumour and trypanocidal activities. **Natural Product Research**, v.27, n.11, p.997-1001, 2013.

DE LUNA, C. J., ARKLE, S., HARRINGTON, D., GEORGE, D. R., GUY, J. H., SPARAGANO, O. A. E. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* as a potential carrier of vector-borne diseases. **Annals of the New York Academy of Science**, v.1149, n.1, p.255-258, 2008.

DE MESQUITA, M. L., GRELLIER, P., MAMBU, L., DE PAULA, J. E., ESPINDOLA, L. S. *In vitro* antiplasmodial activity of Brazilian Cerrado plants used as traditional remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, n.1, p.165-170, 2007.

EBRAHIMI, M., MOSHAVERINIA, A., KALIDARI, G. A., AFKHAMI-GOLI, A. *In vitro* acaricidal effects of Thyme essential oil, Tobacco extract and Carbaryl against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). **Scientia Parasitologica**, v.16, n. 3, p.89-94, 2015.

EL-WAKEIL, N. E. Botanical pesticides and their mode of action. **Gesunde Pflanzen**, v.65, n.4, p.125-149, 2013.

EUROPEAN COMMISSION – Joint Research Centre. **Fipronil in eggs**. 2017. Disponível em: <[http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC110632/2017\\_factsheet\\_fipronil\\_final.pdf](http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC110632/2017_factsheet_fipronil_final.pdf)>. Acesso em: 01/02/2018.

FISCHER, D. C. H., DE AMORIM GUALDA, N. C., BACHIEGA, D., CARVALHO, C. S., LUPO, F. N., BONOTTO, S. V., ALVES, M. O., YOGI, A., DISANTI, S. M., AVILA, P. E., KIRCHGATTER, K., MORENO, P. R. H. *In vitro* screening for antiplasmodial activity of isoquinoline alkaloids from Brazilian plant species. **Acta tropica**, v.92, n.3, p.261-266, 2004.

FLOCHLAY, A. S., THOMAS, E., SPARAGANO, O. Poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) infestation: a broad impact parasitological disease that still remains a significant challenge for the egg-laying industry in Europe. **Parasites & vectors**, v.10, n.1, p.357, 2017.

FOURNIER, G., HADJIAKHOONDI, A., LEBOEUF, M., CAVE, A., CHARLES, B., FOURNIAT, J. Volatile constituents of *Xylopiya frutescens*, *X. pynaertii* and *X. sericea*: Chemical and biological study. **Phytotherapy Research**, v.8, n.3, p.166-169, 1994.

FRAUSIN, G., LIMA, R. B. S., HIDALGO, A. D. F., MAAS, P., POHLIT, A. M. Plants of the Annonaceae traditionally used as antimalarials: a review. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.SPE1, p.315-337, 2014.

GEORGE, D. R., FINN, R. D., GRAHAM, K. M., SPARAGANO, O. A Present and future potential of plant-derived products to control arthropods of veterinary and medical significance. **Parasites & vectors**, v.7, n.1, p.28, 2014.

GEORGE, D. R., GUY, J. H., ARKLE, S., HARRINGTON, D., DE LUNA, C., OKELLO, E. J., SHIEL, R. S., PORT, G., SPARAGANO, O. A. Use of plant-derived products to control arthropods of veterinary importance: A review. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1149, n.1, p.23-26, 2008.

GHANI, S. H. A., ALI, N. A. M., JAMIL, M., MOHTAR, M., JOHARI, S. A., ISA, M. M., PATAH, M. F. Z. Chemical compositions and antimicrobial activity of twig essential oils from three *Xylopia* (Annonaceae) species. **African Journal of Biotechnology**, v.15, n.10, p.356-362, 2016.

GONÇALVES, G. L. P., DE CÁSSIA DOMINGUES, V., DO PRADO RIBEIRO, L., FERNANDES, J. B., DAS GRAÇAS FERNANDES, M. D. F., FORIM, M. R., VENDRAMIM, J. D. Compounds from *Duguetia lanceolata* St.-Hil.(Annonaceae) bioactive against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)(Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Industrial Crops and Products**, v.97, p.360-367, 2017.

GORJI, S. F., GORJI, S. F., RAJABLOO, M. The field efficacy of garlic extract against *Dermanyssus gallinae* in layer farms of Babol, Iran. **Parasitology Research**, v.113, n.3, p.1209-1213, 2014.

HAMSCHER, G, PRIE, B, HARTUNG, J., NOGOSSEK, M., I., GLÜNDER, G., NAU, H. Determination of propoxur residues in eggs by liquid chromatography-

diode array detection after treatment of stocked housing facilities for the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). **Analytica Chimica Acta**, v.483, n.1-2, p.19-26, 2003.

HARRINGTON, D. W. J., GEORGE, D. R., GUY, J. H., SPARAGANO, O. A. E. Opportunities for integrated pest management to control the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. **World's Poultry Science Journal**, v.67, n.1, p.83-94, 2011.

IBGE. **Estatística da produção pecuária**. 2017. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Fasciculo\\_Indicadores\\_IBGE/abate-leite-couro-ovos\\_201701caderno.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201701caderno.pdf)> Acesso em: 21/12/2017.

ISMAN, M. B., SEFFRIN, R. Natural insecticides from the Annonaceae: a unique example for developing biopesticides. p.21-33. In: Singh D (ed.) **Advances in plant biopesticides**. New Delhi, Springer, 401p. 2014.

KILPINEN, O., ROEPSTORFF, A., PERMIN, A., NORGAARD-NIELSEN, G., LAWSON, L. G., SIMONSEN, H. B. Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). **British Poultry Science**, v.46, n.1, p.26-34, 2005.

KIM, S. I., NA, Y. E., YI, J. H., KIM, B. S., AHN, Y. J. Contact and fumigant toxicity of oriental medicinal plant extracts against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). **Veterinary Parasitology**, v.145, n.3-4, p.377-382, 2007.

KOWALSKI, A., SOKOT, R. Influence of *Dermanyssus gallinae* (poultry red mite) invasion on the plasma levels of corticosterone, catecholamines and proteins in layer hens. **Polish journal of veterinary sciences**, v.12, n.2, p.231-235, 2009.

KRINSKI, D., MASSAROLI, A., MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.1, p.225-242, 2014.

LAGO, J. H. G., REIS, A. A., MARTINS, D., CRUZ, F. G., ROQUE, N. F. Composition of the leaf oil of *Xylopiia emarginata* Mart. (Annonaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.17, n.6, p.622-623, 2005.

LAMMERS, G. A., BRONNEBERG, R. G. G., VERNOOIJ, J. C. M., STEGEMAN, J. A. Experimental validation of the AviVet trap, a tool to quantitatively monitor the dynamics of *Dermanyssus gallinae* populations in laying hens. **Poultry Science**, v.96, n.6, p.1563-1572, 2017.

LOCHER, N., AL-RASHEID, K. A. S., ABDEL-GHAFFAR, F., MEHLHORN, H. *In vitro* and field studies on the contact and fumigant toxicity of a neem-product (Mite-Stop®) against the developmental stages of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. **Parasitology Research**, v.107, n.2, p.417-423, 2010.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**, 2.ed. Nova Odessa/SP: Editora Plantarum, 1992, p. 18 e 19.

LÜMMEN, P. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics**, v.1364, n.2, p.287-296, 1998.

LUNDH J., WIKTELIUS D., CHIRICO J. Azadirachtin-impregnated traps for the control of *Dermanyssus gallinae*. **Veterinary Parasitology**, v.130, n.3-4, p.337-342, 2005.

MAAS, P., LOBÃO, A., RAINER, H. **Lista de Espécies da Flora do Brasil: Annonaceae**. 2015. Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB110219>>. Acesso em: 25 dez. 2017.

MAAS, P. J. M., KAMER, H. M.-V., JUNIKKA, L., MELLO-SILVA, R., RAINER, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. **Rodriguésia**, v.52, n.80, p.61-94, 2001.

MAIA, J. G. S., ANDRADE, E. H. A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Química Nova**, v.32, n.3, p.595-622, 2009.

MARANGI, M., CAFIERO, M. A., CAPELLI, G., CAMARDA, A., SPARAGANO, O. A. E., GIANGASPERO, A. Evaluation of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*, Acarina: Dermanyssidae) susceptibility to some acaricides in a field population from Italy. **Experimental and Applied Acarology**, v.48, n.1-2, p.11-18, 2009.

MARANGI, M., MORELLI, V., PATI, S., CAMARDA, A., CAFIERO, M. A., GIANGASPERO, A. Acaricide residues in laying hens naturally infested by red mite *Dermanyssus gallinae*. **Plos One**, v.7, n.2, p.e31795, 2012.

MENDES, R. D. F., PINTO, N. D. C., SILVA, J. M., SILVA, J. B., HERMISDORF, R. C. D. S., FABRI, R. L., CHEDIER, L., M., SCIO, E. The essential oil from the fruits of the Brazilian spice *Xylopia sericea* A. St.-Hil. presents expressive *in-vitro* antibacterial and antioxidant activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.69, n.3, p.341-348, 2017.

MIGNON, B., LOSSON, B. Dermatitis in a horse associated with the poultry mite (*Dermanyssus gallinae*). **Veterinary Dermatology**, v.19, n.1, p.38-43, 2008.

MOREIRA, I. C., LAGO, J. H. G., ROQUE, N. F. Alkaloid, flavonoids and terpenoids from leaves and fruits of *Xylopia emarginata* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.31, n.5, p.535-537, 2003.



MOREIRA, I. C., ROQUE, N. F., CONTINI, K., LAGO, J. H. G. Sesquiterpenes and hydrocarbons from *Xylopia emarginata* (Annonaceae) fruits. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.55-58, 2007.

MOREIRA, I. C.; ROQUE, N. F.; LAGO, J. H. G. Diterpene adducts from branches of *Xylopia emarginata*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.34, n.11, p.833-837, 2006.

MOREIRA, I. C., ROQUE, N. F., VILEGAS, W., ZALEWSKI, C. A., LAGO, J. H. G., FUNASAKI, M. Genus *Xylopia* (Annonaceae): Chemical and biological aspects. **Chemistry and Biodiversity**, v.10, n.1, p.1921-1943, 2013.

MORO C. V., CHAUVE C., ZENNER, L. Vectorial role of some Dermanyssoid mites (Acari, Mesostigmata, Dermanyssoidea). **Parasite**, v.12, n.2, p.99-109, 2005.

MORO, C. V., CHAUVE, C., ZENNER, L. Experimental infection of *Salmonella enteritidis* by the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. **Veterinary Parasitology**, v.146, n.3-4, p.329-336, 2007.

MORO, C. V., DE LUNA, C. J., TOD, A., GUY, J. H., SPARAGANO, O. A., ZENNER, L. The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents. **Experimental and Applied Acarology**, v.48, n.1-2, p.93-104, 2009.

MORRONE, F., MAYWORM, M. A. S., TUCCI, E. C., SALATINO, A., FILHO, O. G. Ação acaricida de extratos foliares de especies de *Coffea* (rubiaceae) sobre *Dermanyssus gallinae* (DE GEER, 1778) (Acari, Dermanyssidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.68, n.2, p.43-47, 2001.

MUL, M. F. **Advancing Integrated Pest Management for *Dermanyssus gallinae* in laying hen facilities.** 194p. Tese (Doutorado) - Wageningen University, 2017.

MUL, M., VAN NIEKERK, T., CHIRICO, J., MAURER, V., KILPINEN, O., SPARAGANO, O., THIND, B., ZOONS, J., MOORE, D., BELL, B., GJEVRE, A. G., CHAUVE, C. Control methods for *Dermanyssus gallinae* in systems for laying hens: results of an international seminar. **World's Poultry Science Journal**, v.65, n.4, p.589-600, 2009.

NAUEN, R., EBBINGHAUS-KINTSCHER, U., ELBERT, A., JESCHKE, P., TIETJEN, K. Acetylcholine receptors as sites for developing neonicotinoid insecticides. In: Ishaaya, I. **Biochemical sites of insecticide action and resistance.** Berlin (Germany): Springer, 2001. P. 77 - 105.

NORDENFORS, H. H., OGLUND, J., TAUSON, R., CHIRICO, J. Effects of permethrin impregnated plastic strips on *Dermanyssus gallinae* in loose housing systems for laying hens. **Veterinary Parasitology**, v.102, n.1-2, p.121-131, 2001.

OCAMPO, D., OCAMPO, R. Bioactividad de la familia Annonaceae. **Revista Universidade de Caldas.** v.26, p.135-155, 2006.

PEDROSO-DE-PAIVA, D. Principais parasitos externos de aves. Concordia, SC: EMBRAPA-CNPSA, 1996. 22p.

PRITCHARD, J., KUSTER, T., SPARAGANO, O., TOMLEY, F. Understanding the biology and control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*: a review. **Avian Pathology**, v.44, n.3, p.143-153, 2015.

RAJABPOUR, A., MASHHADI, A. R. A., GHORBANI, M. R. Acaricidal and repellent properties of some plant extracts against poultry red mite, *Dermanyssus*

*gallinae* (Mesostigmata: Dermanyssidae). **Persian Journal of Acarology**, v.7, n.1, p.85-91, 2018.

RANJBAR-BAHADORI, S. H., FARHADIFAR, N., MOHAMMADYAR, L. Assessment of Susceptibility of the Poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) to Some Plant Preparations with Focus on Exposure Time. **International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering**, v.8, n. 6. p.573-576, 2014.

REZENDE, L. C., CUNHA, L. M., TEIXEIRA, C. M., OLIVEIRA, P. R. O., MARTINS, N. R. S. Mites affecting hen egg production – some considerations for Brazilian farms. **Ciência Rural**, v.43, n.7, p.1230-1237, 2013.

RIBEIRO, L., P., VENDRAMIM, J. D., PADOAN GONÇALVES, G. L., ANSANTE, T. F., MICOTTI DA GLORIA, E., DE CARVALHO LOPES, J., MELLO-SILVA, R., BATISTA FERNANDES, J. Searching for promising sources of grain protectors in extracts from Neotropical Annonaceae. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v.15, n.4, p.215-232, 2016.

ROSEN, S.; YERUHAM, I.; BRAVERMAN, Y. Dermatitis in humans associated with the mites *Pyemotes tritici*, *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus bacoti* and *Androlaelaps casalis* in Israel. **Medical and Veterinary Entomology**, v.16, n.4, p.442-444, 2002.

ROY, L., CHAUVE, C. The genus *Dermanyssus* (Mesostigmata: Dermanyssidae): history and species characterization. In: Sabelis, M.W. & Bruin, J. (Eds.). **Trends in Acarology: Proceedings of the 12th International Congress**. Springer Science, 2010. p. 49-55.

SATTELLE, D. B., CORDOVA, D., CHEEK, T. R. Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemicals. **Invertebrate Neuroscience**, v.8, n.3, p.107, 2008.

SEAB/DERAL. **Análise da conjuntura agropecuária avicultura de postura 2012/2013.** Disponível em:

<[http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/avicultura\\_postura\\_2012\\_13.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/avicultura_postura_2012_13.pdf)> Acesso em: 20/07/2017.

SILVA, L. E., REIS, R. A., MOURA, E. A., AMARAL, W., SOUSA JR, P. T. Plantas do gênero *Xylopi*a: composição química e potencial farmacológico. **Revista Brasileira de Plantas Medicin**ais, v.17, n.4, p.814-826, 2015.

SOUSA, C. M., BALDIN, E. L., RIBEIRO, L. P., SILVA, I. F., MORANDO, R., BICALHO, K. U., VENDRAMIM, J. D., FERNANDES, J. B. Lethal and growth inhibitory activities of Neotropical Annonaceae-derived extracts, commercial formulation, and an isolated acetogenin against *Helicoverpa armigera*. **Journal of Pest Science**, v.90, n.2, p.701-709, 2016a.

SOUSA, O. V., DEL-VECHIO-VIEIRA, G., ALVES, M. S., ARAÚJO, A. A., PINTO, M. A., AMARAL, M. P., RODARTE, M. P. KAPLAN, M. A. Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Duguetia lanceolata* St. Hil. barks. **Molecules**, v.17, n.9, p.11056-11066, 2012.

SOUSA, O. V., DEL-VECHIO-VIEIRA, G., AMARAL, M. P., PINHO, J. J. R. G., YAMAMOTO, C. H., ALVES, M. S. Efeitos antinociceptivo e antiinflamatório do extrato etanólico das folhas de *Duguetia lanceolata* St. Hil.(Annonaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v.27, n.3, p.398-402, 2008.

SOUSA, O. V., DEL-VECHIO-VIEIRA, G., SANTOS, B. C. S., YAMAMOTO, C. E. H., DE MATOS ARAUJO, A. L. U. S., DE ARAUJO, A. D. L. A. E., PINTO, M. A.

O., RODARTE, M. P., ALVES, M. S. *In vivo* and *in vitro* bioactivities of the essential oil of *Duguetia lanceolata* branches. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.10, n.14, p.298-310, 2016b.

SOUSA, O. V., OLIVEIRA, M. S., FIGUEIREDO, M. R., HERINGER, P., BENCHETRIT, L. C., MATTOS, M.C., OLIVEIRA, I. C. M., GATTASS, C. R. KAPLAN, M. A. C. Chemical Composition and antibacterial Activity of the Essential Oil from *Duguetia lanceolata* ST.-Hil.(Annonaceae). **Molecules**, v.17, n.9, p.11056-66, 2003.

SOUSA, O. V., SOARES JÚNIOR, D. T., DEL-VECHIO, G., MATTOSINHOS, R. G., GATTASS, C. R., KAPLAN, M. A. C. Atividades antinociceptiva e antiinflamatória do óleo essencial de cascas de *Duguetia lanceolata* St. Hil., Annonaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, n. 01, p.11-14, 2004.

SOUZA A., C., SILVA, J. C., GONCCEDIL, R., DE LIMA-SARAIVA, S. R. G., JUNIOR, L. J. Q., NUNES, X. P., DA SILVA ALMEIDA, J. R. G. Phytochemical screening and central nervous system effects of ethanolic extract of *Annona vepretorum* (Annonaceae) in mice. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.7, n.37, p.2729-2735, 2013.

SPARAGANO, O. A. E., GEORGE, D. R., HARRINGTON, D. W. J., Giangaspero, A. Significance and control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. **Annual review of entomology**, v.59, p.447-466, 2014.

TABARI, M. A., YOUSSEFI, M. R., BENELLI, G. Eco-friendly control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Dermanyssidae), using the  $\alpha$ -thujone-rich essential oil of *Artemisia sieberi* (Asteraceae): toxic and repellent potential. **Parasitology research**, v.116, n.5, p.1545-1551, 2017.

TAKAHASHI, J. A., VIEIRA, H. S., BOAVENTURA, M. A. D., HANSON, J. R., HITCHCOCK, P. B., OLIVEIRA, A. B. D. Mono and diterpenes from seeds of *Xylopia sericea*. **Quimica Nova**, v.24, n.5, p.616-618, 2001.

TAYLOR, M. A., COOP, R. L., WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. 3. ed. Editora Guanabara Koogan, 2007.

TELES, P. W., SELVA, J. C., GÓMES, C. A. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopia sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). **Química Nova**, v.30, n.4, p.838-841, 2007.

TEMPONE, A. G., BORBOREMA, S. T., DE ANDRADE JR, H. F., DE AMORIM GUALDA, N. C., YOGI, A., CARVALHO, C. S., BACHIEGA, D., LUPO, F. N., BONOTTO, V., FISCHER, D. C. H. Antiprotozoal activity of Brazilian plant extracts from isoquinoline alkaloid-producing families. **Phytomedicine**, v.12, n.5, p.382-390, 2005.

TUCCI, E.C., GUIMARÃES, J.H. Biologia de *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari, Dermanyssidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.7, n.1, p.27-30, 1998.

VIEIRA, P. C., MAFEZOLI, J., BIAVATTI, M. W. Inseticidas de origem vegetal. In: FERREIRA, J. T. B., CORRÊA, A. G., VIEIRA, P. C. **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: Ed. da UFSCar, 2001. p.176.

VILEGAS, W., FELICIO, J. D. A., ROQUE, N. F., GOTTLIEB, H. E. Diterpenic adducts from *Xylopia* species. **Phytochemistry**, v.30, n.6, p.1869-1872, 1991.

ZAFRA-POLO, M. C., GONZÁLEZ, M. C., ESTORNELL, E., SAHPAZ, S., CORTES, D. Acetogenins from Annonaceae, inhibitors of mitochondrial complex I. **Phytochemistry**, v.42, n.2, p.253-271, 1996.

ZEMAN, P., ZELEZNY, J. The susceptibility of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778), to some acaricides under laboratory conditions. **Experimental na applied acarology**, v.1, n.1, p.17-22, 1985.

1 **Atividade acaricida de plantas da família Annonaceae para *Dermanyssus***  
2 ***gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae)**

3

4 Rafaela Barbosa Pares<sup>1</sup>, DeJane Santos Alves<sup>3</sup>, Luis Francisco Angeli Alves<sup>2</sup>,  
5 Jociane Ascari<sup>3</sup>, Denilson Ferreira Oliveira<sup>4</sup>

6 <sup>1,2</sup>Laboratório de Biotecnologia Agrícola – Universidade Estadual do Oeste do  
7 Paraná – UNIOESTE, Cascavel – PR, Brasil. <sup>3</sup>Universidade Tecnológica Federal  
8 do Paraná, Santa Helena – Paraná, Brasil. <sup>4</sup>Departamento de Química –  
9 Universidade Federal de Lavras, Lavras – Minas Gerais, Brasil.

10

11 RESUMO

12 *Dermanyssus gallinae*, considerado o mais importante ectoparasita hematófago,  
13 associado à avicultura de postura, é controlado através de acaricidas sintéticos.  
14 No entanto, o uso indiscriminado desses produtos tem levado a seleção de  
15 populações resistentes, além de apresentar riscos relacionados à alimentação  
16 humana. A carência de produtos registrados para seu controle ressalta a  
17 importância de pesquisas e, nesse sentido, produtos do metabolismo secundário  
18 de plantas apresentam-se promissores. Assim, esse trabalho teve como objetivo  
19 avaliar a atividade acaricida de frações solúveis em diclorometano, provenientes  
20 de *Xylopiya sericea* (cascas e frutos), *Xylopiya emarginata* (cascas) e *Duguetia*  
21 *lanceolata* (cascas). Os bioensaios foram conduzidos através da metodologia de  
22 aplicação tópica e ação fumigante. Adicionalmente, a fração mais ativa foi  
23 submetida à caracterização química, empregando-se cromatografia líquida de alta  
24 eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (CLAE-EM/EM). Não  
25 houve ação acaricida fumigante dos extratos, porém, no ensaio de aplicação



26 tópica, todas as espécies vegetais testadas apresentaram atividade. Os  
27 resultados mais promissores foram verificados para a fração das cascas do caule  
28 de *X. emarginata*, com  $TL_{50}$  de apenas 14 h e  $CL_{50} = 331,769 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .  
29 Cipermetrina apresentou  $CL_{50}$  de  $1234,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , essa concentração foi 73%  
30 maior em comparação à fração de *X. emarginata*. Através da análise química  
31 exploratória da fração de *X. emarginata*, foi possível a detecção de  
32 sesquiterpenos como a classe do composto majoritário, podendo-se sugerir que o  
33 composto responsável pela atividade acaricida pertença a essa classe química.

34

35 PALAVRAS-CHAVE: ácaro-vermelho-da-galinha, extratos vegetais, controle  
36 alternativo, inseticidas botânicos, *Xylopi*a *sericea*, *Xylopi*a *emarginata*, *Duguetia*  
37 *lanceolata*

## 38 ABSTRACT

39 *Dermanyssus gallinae* is considered the most important hematophagous  
40 ectoparasite in poultry laying. Its control is realized with synthetic products.  
41 However, the indiscriminate use of it has led to the selection of resistant  
42 population, besides presents risks to human consumption. The lack of products  
43 registered for their control highlights the importance of research and, in this sense,  
44 products of the secondary metabolism of plants are promising. The objective of  
45 this paper was to evaluate the acaricidal activity of soluble fractions in  
46 dichloromethane, obtained from *Xylopi*a *sericea* (steam barks and fruits), *Xylopi*a  
47 *emarginata* (steam barks) and *Duguetia lanceolata* (steam barks). The bioassays  
48 were conducted through topical application and fumigant action methodology. In  
49 addition, the most active fraction was subjected to chemical characterization, using  
50 high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry (HPLC-  
51 MS). There was no fumigant acaricidal action of the extracts, however, in the  
52 topical application, all tested plant species showed activity. The most promising  
53 results were found for the fraction of *X. emarginata* stem bark, with  $LT_{50}$  of only 14  
54 h and  $LC_{50} = 331,769 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Cypermethrin showed  $LC_{50}$  of  $1234.4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , which  
55 concentration was 73% higher in comparison to the fraction of *X. emarginata*.  
56 Through the exploratory chemical analysis of the fraction of *X. emarginata*, it was  
57 possible to detect sesquiterpens as the class of the major compound, and it may  
58 be suggested that the compound responsible for the acaricidal activity belongs to  
59 this chemical class.

60

61 KEY WORDS: poultry red mite, plant extracts, alternative control, botanical  
62 insecticide, *Xylopi*a *sericea*, *Xylopi*a *emarginata*, *Duguetia lanceolata*

## 63 INTRODUÇÃO

64

65 O ácaro-vermelho-da-galinha *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari:  
66 Dermanyssidae) é um ectoparasita hematófago, considerado o mais importante  
67 associado à avicultura de postura (Pritchard et al. 2015). Possui hábito noturno e,  
68 pela alimentação, gera grande incômodo às aves durante o período de descanso  
69 e, em consequência ao prurido intenso, surgem lesões na pele. Além disso, pode  
70 levar a alterações imunológicas (Kowalski e Sokot 2009), anemia severa e morte  
71 das aves, quando a infestação é muito grande (Taylor et al. 2007; Flochlay et al.  
72 2017). Também foi comprovada sua ação como vetor de doenças, incluindo  
73 patógenos zoonóticos, tais como, *Salmonella enteritidis* (Moro et al. 2009).

74 Acaricidas sintéticos não registrados para controle desse ácaro são  
75 comumente empregados nos aviários (Rezende et al. 2013), sendo alguns deles  
76 proibidos para utilização em aviários (Flochlay et al. 2017).

77 Pesquisas comprovaram a presença de resíduos de diferentes produtos em  
78 ovos, órgãos e em tecidos de galinhas poedeiras (Hamscher et al. 2003; Marangi  
79 et al. 2012). Em 2017, diversos estados da União Européia foram impedidos de  
80 comercializar produtos avícolas devido à suspeita de resíduos de fipronil nos ovos  
81 (European Commission 2017). Além disso, o uso indiscriminado dessas  
82 substâncias tem levado à seleção de populações resistentes (Zeman e Zelezny  
83 1985; Beugnet et al. 1997; Nordenfors et al. 2001; Marangi et al. 2009). Assim,  
84 torna-se evidente a necessidade de novas abordagens para controle desse  
85 artrópode (Flochlay et al. 2017).

86 Nesse sentido, produtos de origem vegetal têm demonstrado ser promissora,  
87 com a vantagem de, muitas das vezes, não deixar resíduos no ambiente ou

88 alimento e, frequentemente, apresentarem baixa toxicidade a mamíferos (Vieira et  
89 al. 2001).

90 Os metabólitos secundários de plantas podem ser empregados na forma de  
91 extratos ou podem servir como modelo para a síntese de outras moléculas  
92 (Cantrell et al. 2012), a exemplo dos piretroides que tiveram como molécula  
93 modelo, as piretrinas isoladas das flores de crisântemo (El-Wakeil 2013). Nesse  
94 sentido, pesquisas voltadas à descoberta de substâncias de origem vegetal com  
95 potencial acaricida tornam-se fundamentais e constituem o primeiro passo para  
96 obtenção de novos produtos, que possam ser empregados em sistemas avícolas.

97 Destaca-se nesse contexto, as plantas da família Annonaceae, com grande  
98 potencial inseticida (Krinski et al. 2014), havendo produtos comerciais à base de  
99 extrato de anonáceas para o controle de pragas nos EUA e Índia (Isman 2006;  
100 Isman e Sefrin 2014).

101 Entre os grupos de metabólitos secundários ativos contra artrópodes,  
102 produzidos por anonáceas, destacam-se alcaloides, terpenoides, flavonoides e  
103 acetogeninas (Moreira et al. 2013).

104 O potencial acaricida de anonáceas para *D. gallinae* ainda não foi avaliado,  
105 contudo, sabe-se da bioatividade de plantas dessa família para outras espécies  
106 de ácaros (Madhumitha et al. 2012; Maciel et al. 2015; Alves et al. 2015)

107 Portanto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a atividade acaricida de  
108 plantas da família Annonaceae para *D. gallinae* e realizar a caracterização  
109 química do material botânico mais bioativo.

## 110 MATERIAL E MÉTODOS

111

## 112 Material botânico

113

114 O material botânico foi coletado na Região do Alto do Rio Grande, Lavras,  
115 MG. Parte do material foi empregada para a confecção de exsiccatas às quais  
116 foram depositadas no Herbário da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz  
117 (Tabela 1). O restante do material foi submetido à secagem em estufa de  
118 ventilação forçada a 40°C, dando origem ao material vegetal seco, que foi  
119 encaminhado para o Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Química  
120 – Universidade Federal de Lavras para o preparo dos extratos e obtenção das  
121 frações.

122 Tabela 1. Material botânico usado para o preparo dos extratos vegetais a serem empregados nos ensaios tópicos e de ação  
 123 fumigante sobre *D. gallinae*.

124

<b>Nome Científico</b>	<b>Parte Coletada</b>	<b>Estágio Fenológico</b>	<b>Coordenadas Geográficas</b>	<b>Número de Exsicata</b>
<i>Duguetia lanceolata</i> (St.-Hil.)	Cascas do caule	Vegetativo	21 22.886 S; 044 96.522 O	27631
<i>Xylopiia emarginata</i> (Mart.)	Cascas do caule	Vegetativo	21 17.8071 S; 044 42.8061 O	27636
<i>Xylopiia sericea</i> (St.-Hil.)	Cascas do caule e frutos	Reprodutivo com frutos	23 000.000 S; 049 22.910 O	27646

125 Obtenção dos extratos vegetais e frações

126

127 Para o preparo dos extratos vegetais foi adotada a metodologia descrita por  
128 Álvarez-Colom et al. (2007, 2008, 2009). Para isso, o material botânico seco (50  
129 g) foi submetido à extração com metanol (300 mL) por 24 h. Em seguida,  
130 filtraram-se as misturas em algodão hidrófilo. O processo de extração foi repetido  
131 por oito vezes, sendo, ao final, combinadas as fases líquidas oriundas de cada  
132 amostra vegetal. O solvente de cada fase líquida resultante foi removido em  
133 evaporador rotatório, dando origem aos extratos vegetais metanólicos.

134 Os extratos vegetais metanólicos foram submetidos à partição líquido-  
135 líquido. Para tanto, adicionaram-se 5 g de cada extrato a uma mistura de  
136 diclorometano (20 mL) e água (20 mL). Após agitação por 10 min, seguida de  
137 repouso por 10 min, removeu-se a fase inferior (diclorometano) por decantação e  
138 se repetiu o processo duas vezes com mais diclorometano (2 × 20 mL).  
139 Combinaram-se as três fases de diclorometano, provenientes de cada amostra,  
140 para a obtenção de soluções as quais foi adicionado sulfato de sódio anidro.  
141 Filtraram-se as misturas obtidas em algodão e se removeu o solvente de cada  
142 solução final, em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi liofilizado por 24 h,  
143 dando origem as frações solúveis em diclorometano provenientes de extratos  
144 metanólicos.

145

146 Obtenção dos ácaros

147

148 Os ácaros foram coletados em aviário de postura comercial, sem histórico de  
149 utilização de acaricidas, localizado na região Oeste do estado do Paraná, Brasil

150 (25°26'8,15°S; 54°04'39,5°O). No laboratório, as fêmeas ingurgitadas e ativas  
151 foram selecionadas e com um pincel fino transferidas para tubos de vidro,  
152 fechados com “plug” confeccionado com algodão e tecido *voil*, por 24 h em sala  
153 climatizada (26±1°C, UR 70±5% e 14 h de fotoperíodo), antes da utilização nos  
154 ensaios. E todos os ensaios foram mantidos nessas mesmas condições.

155

156 Ensaio de fumigação

157

158 O método empregado foi baseado no descrito por Kim et al. (2004).  
159 Alíquotas das frações solúveis em diclorometano (30 mg), provenientes das  
160 cascas do caule de *D. lanceolata* e *X. emarginata* e dos frutos e cascas do caule  
161 de *X. sericea* foram solubilizadas em acetona (300 µL). Alíquotas de 50 µL foram  
162 aplicadas, com auxílio de uma micropipeta, em secções de papel filtro (2 cm × 2  
163 cm), assim, a concentração aplicada por repetição foi de 1,25 mg/cm<sup>2</sup>. O papel  
164 filtro foi transferido para tubos de vidro (38,45 cm<sup>3</sup>). Aproximadamente 25 ácaros  
165 foram transferidos para tubos plásticos de microcentrifuga (2 cm<sup>3</sup>), que tiveram a  
166 tampa removida e recoberta por tecido tipo *voil*. Os tubos foram inseridos nos  
167 tubos de vidro que foram vedadas com membrana Parafilm®.

168 O experimento foi realizado contando com cinco repetições por tratamento,  
169 sendo a parcela experimental formada por um tubo de vidro contendo o tubo de  
170 plástico com ácaros em seu interior. Como controle negativo foi utilizada acetona  
171 P.A. A avaliação da mortalidade dos ácaros foi realizada 48 h após o início do  
172 bioensaio, sendo considerados mortos os ácaros que não apresentavam  
173 mobilidade visível, nem respondiam ao toque do pincel.



174 Ensaio de aplicação tópica

175

176 Alíquotas das frações (15 mg) foram solubilizadas em acetona (150  $\mu$ L).

177 Para a avaliação da atividade tópica dos extratos, secções de papel filtro estéril (1

178  $\times$  1,5 cm) parcialmente dobrados ao meio, de forma que formassem um “V”, foram

179 dispostos sobre uma superfície e isolados com um círculo com detergente líquido

180 para evitar a fuga dos ácaros. Aproximadamente 25 ácaros foram depositados em

181 cada secção de papel filtro e deixados até que cessassem a locomoção e

182 permanecessem aglomerados no vinco do papel. Em seguida, foram aplicados 20

183  $\mu$ L das frações sobre o aglomerado de ácaros, equivalente 1,3 mg/cm<sup>2</sup>. Após a

184 evaporação da acetona, os ácaros foram transferidos para tubos de vidro

185 fechados com “plug” de algodão hidrófobo e tecido *voil*. No controle negativo,

186 foram aplicados 20  $\mu$ L de acetona P.A. sobre os ácaros. As avaliações foram

187 realizadas após 2, 6, 12, 24 e 48 h após o início do bioensaio, sendo

188 consideradas mortos os ácaros que não apresentavam mobilidade visível, nem

189 respondiam ao toque do pincel.

190 Foram utilizadas cinco repetições por tratamento, sendo a parcela

191 experimental formada por um tubo contendo aproximadamente 25 ácaros.

192

193 Determinação da resposta tempo-concentração-mortalidade

194

195 Os ensaios de aplicação tópica foram conduzidos conforme descrito

196 anteriormente. As concentrações foram determinadas através de testes prévios

197 visando à determinação de concentrações que causassem mortalidade variando

198 entre, pelo menos, 20 e 80% (Finney 1971). Para a fração das cascas do caule de

199 *D. lanceolata*, as concentrações testadas foram 444, 622 888, 1244 e 1777  
200  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Para *X. emarginata* (cascas) e *X. sericea* (cascas) foram empregadas as  
201 concentrações 222, 444, 888 e 1777  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . E para *X. sericea* (frutos), as  
202 concentrações foram de 533, 800, 1155, 1777 e 2666  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

203 Adicionalmente, também foi empregada cipermetrina (produto técnico  
204 50:50; Merck Sharp e Dohme Saúde Animal, 2015) como controle positivo, nas  
205 concentrações de 444, 800, 1333, 2488 e 4444  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , e como controle negativo,  
206 utilizou-se acetona P.A.

207 As avaliações foram realizadas em 2, 6, 12, 24, 48 horas após o  
208 tratamento. Para determinação da resposta da concentração mortalidade foram  
209 utilizados os dados de sobrevivência dos ácaros 24 horas após o tratamento.

210

211 Análise exploratória do perfil metabólico de *X. emarginata*

212

213 As análises de espectrometria de massas foram conduzidas na Central de  
214 Espectrometria de Massas de Micromoléculas Orgânicas (CEMMO) do  
215 Departamento de Física e Química da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da  
216 Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto. O sistema CLAE-EM/EM  
217 consistiu em um cromatógrafo Prominence SHIMADZU acoplado a um  
218 espectrômetro de massas modelo micrOTOFF II - ESI-TOF (Bruker Daltonics,  
219 Billerica, MA, EUA), operado nos modos positivo e negativo. A separação  
220 cromatográfica foi realizada empregando como fase móvel água, acetonitrila e  
221 ácido fórmico em combinações binárias. Os dados foram adquiridos e tratados  
222 utilizando o sistema de aquisição Compass DataAnalysis.

223 As análise de RMN  $^1\text{H}$  foram obtidas em espectrômetro Bruker AVANCE

224 DRX400 no Laboratório de Ressonância Magnética de Alta Resolução  
225 (LAREMAR) do Departamento de Química-ICEX-UFMG.

226

227 Análise estatística

228

229 Todos os ensaios seguiram um delineamento inteiramente aleatorizado e  
230 foram repetidos no tempo duas vezes. Assim, para a análise conjunta dos  
231 ensaios, os dados, obtidos nos diferentes experimentos, foram submetidos ao  
232 teste de Bartlett com vistas a verificar a homogeneidade das variâncias.

233 Os dados obtidos no ensaio de fumigação foram submetidos ao teste não-  
234 paramétrico de Kruskal-Wallis.

235 A sobrevivência dos ácaros ao longo do tempo foi analisada por meio da  
236 análise de sobrevivência, aplicando o modelo de Weibull, utilizando o pacote  
237 Survival do software R (Therneau 2013). Para verificar a aderência dos dados à  
238 distribuição de Weibull foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Em seguida,  
239 foi realizada a análise de contraste para verificar a semelhança entre os  
240 tratamentos, possibilitando a formação de grupos congêneres. Também foi  
241 estimado o tempo letal mediano ( $TL_{50}$ ) para cada grupo formado. Todas as  
242 análises foram feitas empregando o software R (R Development Core Team  
243 2017).

244 Para a determinação da resposta concentração-mortalidade, os dados  
245 obtidos após 24 h do início do bioensaio foram submetidos à análise de Logit,  
246 empregando o pacote drc (Ritz 2013).

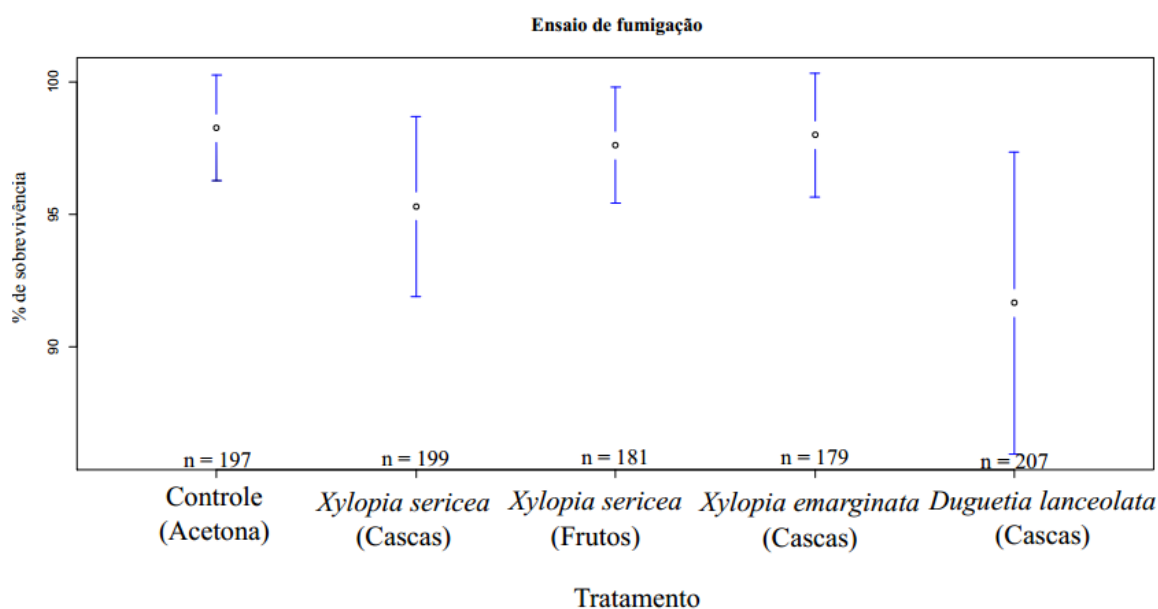
## 247 RESULTADOS

248

## 249 Ensaio de fumigação

250

251 Não foi observada ação acaricida das frações através do ensaio de  
 252 fumigação. A sobrevivência média dos ácaros variou entre 91,6 e 98,3%, não  
 253 sendo constada diferença estatística entre os tratamentos ( $\chi^2 = 7,61$ ;  $df = 4$ ;  $p =$   
 254 0,1) (Figura 1).



255

256 Figura 1. Sobrevivência (%) de *Dermanyssus gallinae* submetidos ao teste de  
 257 fumigação com as frações solúveis em diclorometano provenientes de extratos  
 258 metanólicos de *Xylopiá sericea* (casca), *Xylopiá sericea* (frutos), *Xylopiá*  
 259 *emarginata* (casca) e *Duguetia lanceolata* (casca).

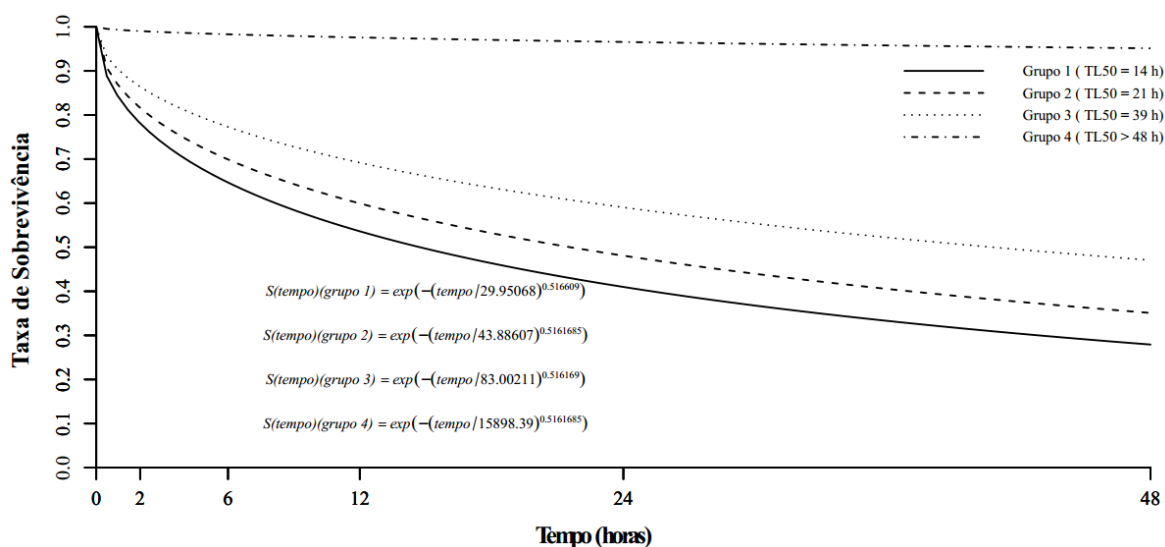
260

## 261 Ensaio de aplicação tópica

262

263 Os dados de sobrevivência de *D. gallinae*, ao longo do tempo, se ajustaram

264 a distribuição de Weibull ( $D = 0,035996$ ,  $p = 0,1444$ ). Foi possível constatar  
 265 diferença estatística entre os tratamentos ( $\chi^2 = 471,08$ ;  $df = 4$ ;  $p \leq 0,01$ ), e a  
 266 formação de quatro grupos congêneres. O primeiro grupo é referente à fração  
 267 solúvel em diclorometano do extrato metanólico de cascas do caule de *X.*  
 268 *emarginata*, com  $TL_{50}$  de apenas 14 h. Destaca-se que 48 h após o início do  
 269 bioensaio, pode-se constatar apenas 28% de sobrevivência dos ácaros tratados.  
 270 O grupo dois representa o tratamento *X. sericea* (cascas), com  $TL_{50}$  de 21 h, e  
 271 sobrevivência de 35% após 48 horas. Enquanto o grupo três englobou os  
 272 tratamentos *X. sericea* (frutos) e *D. lanceolata* (cascas), com  $TL_{50}$  de 39 h e  
 273 sobrevivência de 47%. O grupo quatro foi formado pelos ácaros que receberam o  
 274 tratamento com acetona, com sobrevivência acumulada de 95% (Figura 2).



275

276 Figura 2. Sobrevivência de *Dermanyssus gallinae* ao longo do tempo, submetidos  
 277 a tratamento com frações solúveis em diclorometano provenientes de extratos  
 278 metanólicos de espécies de anonáceas. Sendo  $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)^\alpha)$ , onde:  $\delta =$   
 279 parâmetro de forma;  $\alpha =$  parâmetro de escala. Grupo 1: *Xylopi* *emarginata*  
 280 (cascas) ( $n = 447$ ). Grupo 2: *Xylopi* *sericea* (cascas) ( $n = 427$ ). Grupo 3: *Xylopi*.

281 *sericea* (frutos) (n = 411) e *Duguetia lanceolata* (cascas) (n = 400). Grupo 4:  
282 Controle (acetona P.A.) (n = 343).

283

284 Determinação da resposta tempo-concentração-mortalidade

285

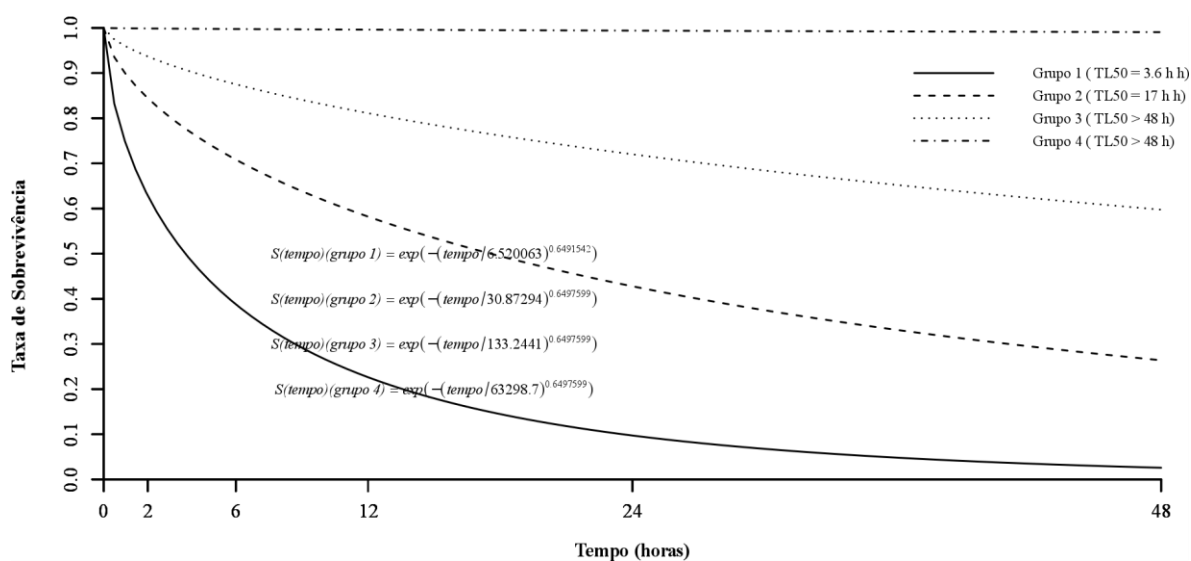
286 A partir do teste de determinação da resposta concentração-mortalidade,  
287 verificou-se que a fração proveniente das cascas do caule de *X. emarginata* foi a  
288 mais promissora dentre as espécies testadas ( $CL_{50} = 331,769 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ),  
289 diferenciando-se significativamente das demais (Tabela 2). Além disso, foi 73%  
290 menor daquela empregada para o controle positivo. Ressalta-se que todos os  
291 extratos apresentaram  $CL_{50}$  inferior ao valor encontrado para o controle positivo,  
292 em que foi empregado o inseticida comercial cipermetrina ( $CL_{50} = 1.234,42$   
293  $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \pm 79,2$ ).

294 Tabela 2. Concentração letal mediana (CL<sub>50</sub>) (µg/cm<sup>2</sup>) de frações solúveis em diclorometano, provenientes de espécies de  
 295 anonáceas para *Dermanyssus gallinae*, por aplicação tópica.

Frações	CL <sub>50</sub> (µg/cm <sup>2</sup> )	n	b ± EP	e ± EP	χ <sup>2</sup>	df
<i>X. sericea</i> (cascas)	496,5 (LI 447,18 – LS 545,87)	976	-1,79 (0,1301)	476,57 (24,1851)	9,51	4
<i>X. emarginata</i> (cascas)	331,8 (LI 298,40 - LS 365,13)	1029	-1,88 (0,1455)	331,76 (17,0224)	7,67	4
<i>D. lanceolata</i> (cascas)	707,2 (LI 662,00 – LS 752,46)	896	-3,11 (0,2138)	707,23 (23,0779)	11,9	4
<i>X. sericea</i> (frutos)	739,3 (LI 683,53 – LS 795,09)	903	-2,53 (0,2056)	739,3133(28,4596)	5,98	4
Cipermetrina	1234,4 (LI 1079,1 – LS 1389,6)	1359	-1,00 (0,0869)	1234,41 (79,19)	7,52	5

296 LI=Limite inferior; LS=Limite superior; n=número de ácaros; “b” e “e” = coeficientes da equação  $f(x)=1/1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))$ .

297 No que se refere à *X. emarginata*, verificou-se aderência dos dados à  
 298 distribuição de Weibull ( $D = 0,049713$ ,  $p = 0,1507$ ), havendo a formação de quatro  
 299 grupos congêneres ( $\chi^2 = 893,61$ ;  $df = 4$ ;  $p \leq 0,01$ ). Sendo o primeiro grupo  
 300 representado pelas frações solúveis em diclorometano de cascas do caule de *X.*  
 301 *emarginata* nas maiores concentrações testadas (888 e 1776  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), com  $\text{TL}_{50}$   
 302 de apenas 3,6 h. O grupo dois representa o tratamento na concentração de 444  
 303  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  da fração das cascas de *X. emarginata*, com  $\text{TL}_{50}$  de 17 h. O grupo três é  
 304 referente à fração solúvel em diclorometano de *X. emarginata* na concentração  
 305 222  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , com  $\text{TL}_{50}$  de 48 h. O grupo quatro foi formado pelos ácaros que  
 306 receberam o tratamento com acetona (Figura 3).



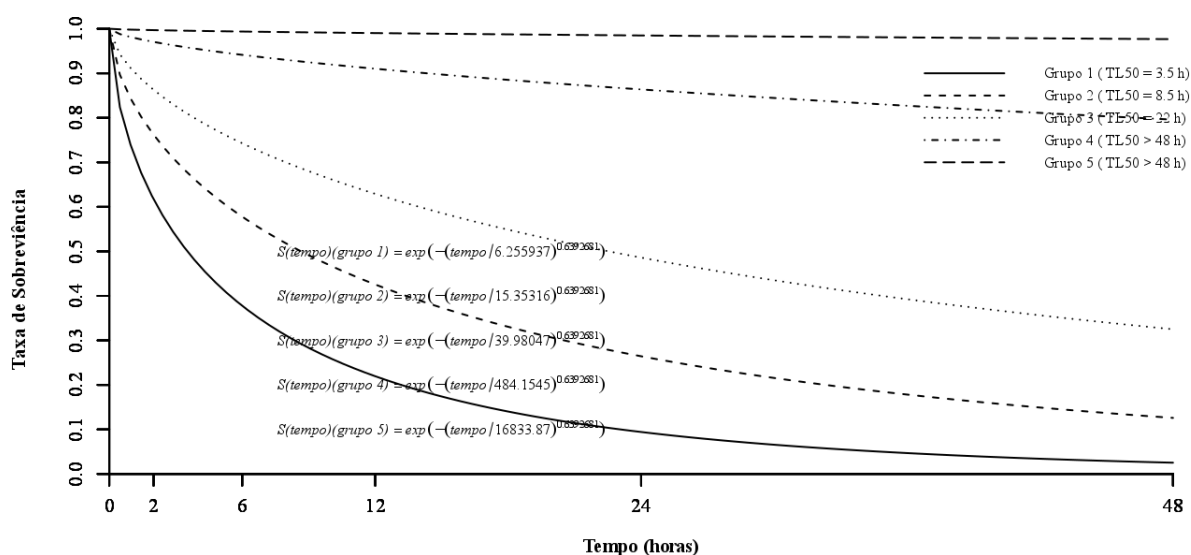
308 Figura 3. Sobrevivência de *Dermanyssus gallinae* ao longo do tempo, submetidos  
 309 a tratamento com frações solúveis em diclorometano provenientes de extratos  
 310 metanólicos, de *Xylopia emarginata* (cascas), sendo  $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)^\alpha)$ ,  $\delta =$   
 311 parâmetro de forma;  $\alpha =$  parâmetro de escala. Grupo 1: Fração de cascas do  
 312 caule de *X. emarginata* 888  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $n = 212$ ) e 1776  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $n = 180$ ). Grupo 2:  
 313 Fração de cascas do caule de *X. emarginata* 444  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $n = 218$ ). Grupo 3:  
 314 Fração de cascas do caule de *X. emarginata* 222  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $n = 207$ ) Grupo 4:



315 Controle (acetona P.A.) (n = 212).

316

317 Em se tratando da fração das cascas do caule de *X. sericea*, houve ajuste  
 318 dos dados à distribuição de Weibull ( $D = 0,047813$   $p = 0,2111$ ). A análise de  
 319 sobrevivência permitiu a formação de cinco grupos congêneres ( $\chi^2 = 756,79$ ;  $df =$   
 320  $4$ ;  $p \leq 0,05$ ). O grupo 1 foi formado pelo tratamento onde os ácaros foram  
 321 submetidos à fração solúvel em diclorometano de cascas do caule de *X. sericea*  
 322 na concentração mais alta testada ( $1776 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Neste grupo o tempo letal  
 323 mediano foi de apenas 3,5 h. O segundo grupo foi representado pela fração de  
 324 cascas do caule de *X. sericea* na concentração  $888 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , que obteve  $TL_{50}$  de  
 325 8,5 h. O grupo três englobou a concentração de  $444 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  da fração das cascas  
 326 do caule de *X. sericea*, com  $TL_{50}$  de 22 h. Enquanto o grupo quatro designa à  
 327 fração solúvel em diclorometano de *X. sericea* na concentração  $222 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , com  
 328  $TL_{50}$  de 48 h. O grupo cinco foi formado pelos ácaros que receberam o tratamento  
 329 com acetona (Figura 4).



330

331 Figura 4. Sobrevivência de *Dermanyssus gallinae* ao longo do tempo, submetidos

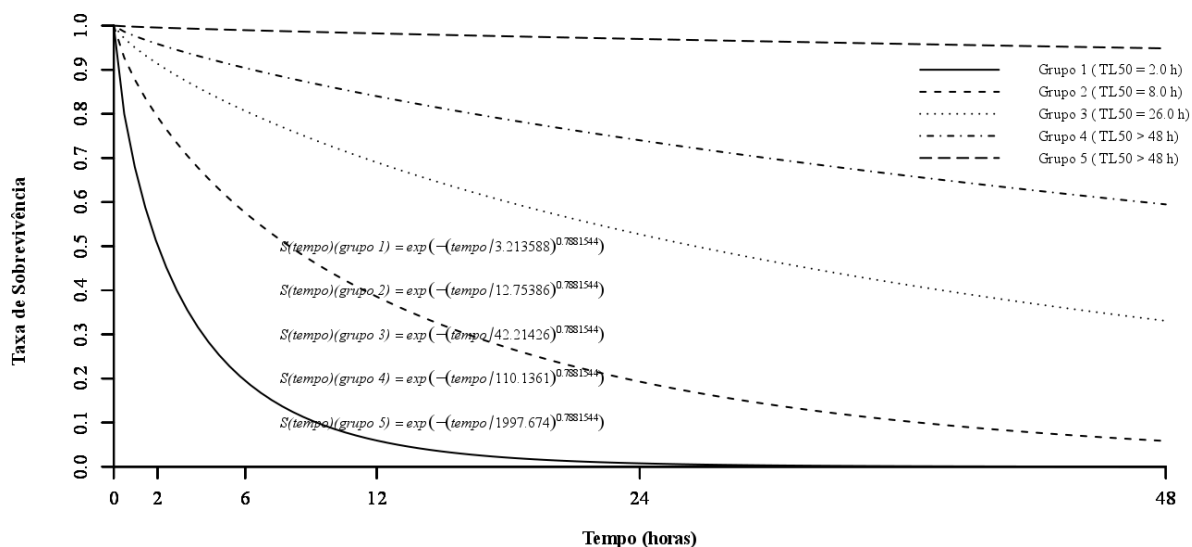
332 a tratamento com frações solúveis em diclorometano provenientes de extratos

333 metanólicos de *Xylopiá sericea* (cascas), sendo  $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)^\alpha)$ ,  $\delta =$   
334 parâmetro de forma;  $\alpha =$  parâmetro de escala. Grupo 1: Fração de cascas do  
335 caule de *X. sericea* 1776  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 226). Grupo 2: Fração de cascas do caule  
336 de *X. sericea* 888  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 174). Grupo 3: Fração de cascas do caule de *X.*  
337 *sericea* 444  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 181). Grupo 4: Fração de cascas do caule de *X. sericea*  
338 222  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 182). Grupo 5: Controle (acetona P.A.) (n = 213).

339

340 Para a fração proveniente dos frutos de *X. sericea*, também foi constatada  
341 aderência dos dados à distribuição de Weibull ( $D = 0,025499$ ,  $p = 0,9311$ ), com a  
342 formação de cinco grupos congêneres ( $\chi^2 = 758,28$ ;  $df = 4$ ;  $p \leq 0,05$ ). O primeiro  
343 grupo representa a fração solúvel em diclorometano de frutos de *X. sericea* na  
344 concentração 2666  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , apresentando  $TL_{50}$  de 2 h. O tratamento onde foi  
345 administrada a fração na concentração 1777  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  representa o grupo 2, e  
346 obteve  $TL_{50}$  de 8 h. A fração dos frutos de *X. sericea* na concentração 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$   
347 designa o grupo 3, com  $TL_{50}$  de 23 h. O grupo quatro é referente ao tratamento  
348 onde foi empregada a fração solúvel em diclorometano de *X. sericea* na menor  
349 concentração avaliada (533  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), obtendo  $TL_{50}$  de 48 h. Enquanto o grupo  
350 cinco representa o controle negativo (acetona P.A) (Figura 5).

351



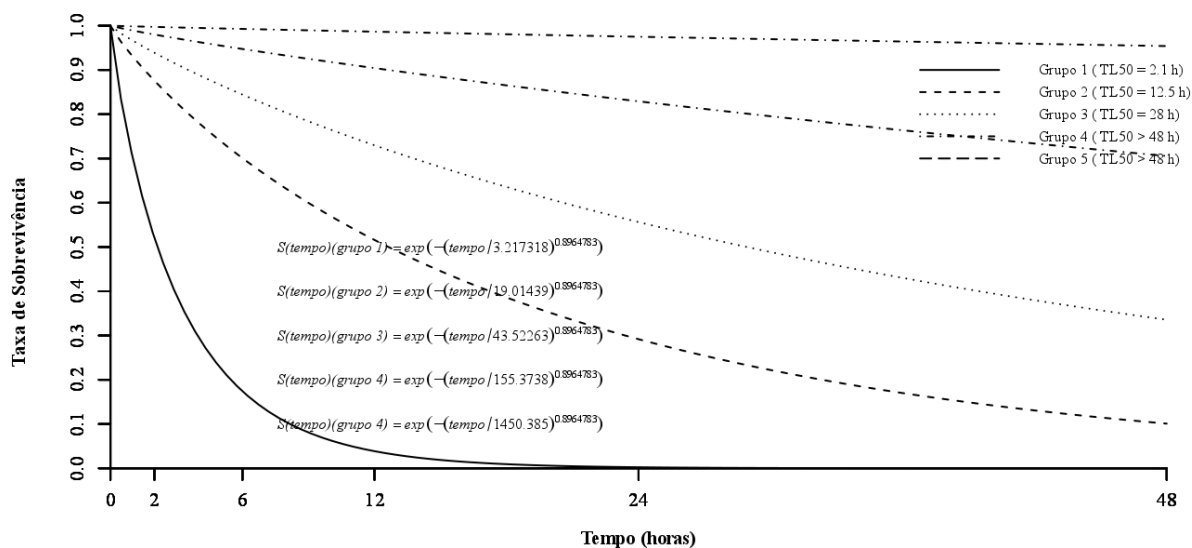
352

353 Figura 5. Sobrevivência de *Dermanyssus gallinae* ao longo do tempo, submetidos  
 354 a tratamento com frações solúveis em diclorometano provenientes de extratos  
 355 metanólicos de *Xylopiya sericea* (frutos), sendo  $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)^\alpha)$ ,  $\delta =$   
 356 parâmetro de forma;  $\alpha =$  parâmetro de escala. Grupo 1: Fração de frutos de *X.*  
 357 *sericea* 2666  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 167). Grupo 2: Fração de frutos de *X. sericea* 1777  
 358  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 151). Grupo 3: Fração de frutos de *X. sericea* 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 204).  
 359 Grupo 4: Fração de frutos de *X. sericea* 533  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 187). Grupo 5: Controle  
 360 (acetona P.A.) (n = 194).

361

362 A análise de sobrevivência da fração proveniente das cascas do caule de  
 363 *D. lanceolata* permitiu a formação de cinco grupo congêneres  $\chi^2 = 820,87$ ;  $\text{df} = 4$ ;  
 364  $p \leq 0,05$ ), sendo também constatada a aderência dos dados à distribuição de  
 365 Weibull (D = 0,067039,  $p = 0,03582$ ). O grupo 1 foi representado pela fração de  
 366 cascas do caule de *D. lanceolata* na concentração 1777  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , com  $\text{TL}_{50}$  de 2,1  
 367 h e o segundo grupo, referente a concentração 1244  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e  $\text{TL}_{50}$  de 12,5 h. O  
 368 terceiro grupo foi representado pela fração de *D. lanceolata* (622  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), sendo a

369 TL<sub>50</sub> de 28 h. O grupo quatro englobou a concentração mais baixa testada do  
 370 extrato (444 µg/cm<sup>2</sup>) com TL<sub>50</sub> de 48 h. O quinto grupo é referente ao controle  
 371 negativo (acetona), com TL<sub>50</sub> maior do que o período de avaliação do experimento  
 372 (Figura 6).



373

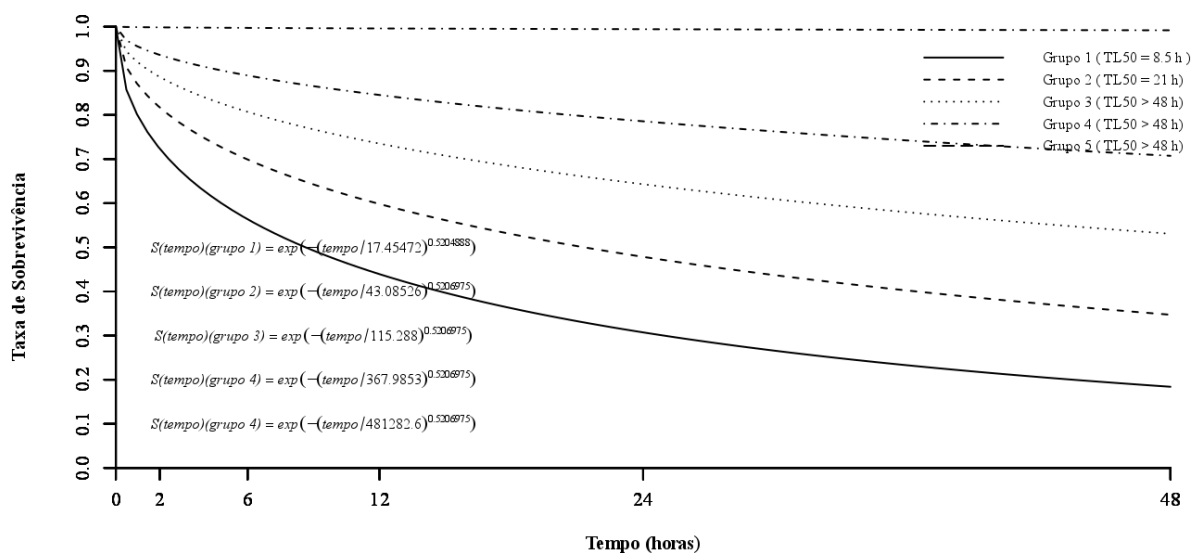
374 Figura 6. Sobrevivência de *Dermanyssus gallinae* ao longo do tempo, submetidos  
 375 a tratamento com frações solúveis em diclorometano provenientes de extratos  
 376 metanólicos de *Duguetia lanceolata* (cascas), sendo  $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)^\alpha)$ ,  $\delta$  =  
 377 parâmetro de forma;  $\alpha$  = parâmetro de escala. Grupo 1: Fração de cascas do  
 378 caule de *D. lanceolata* 1777 µg/cm<sup>2</sup> (n = 179). Grupo 2: Fração de cascas do  
 379 caule de *D. lanceolata* 1244 µg/cm<sup>2</sup> (n = 183). Grupo 3: Fração de cascas do  
 380 caule de *D. lanceolata* 622 µg/cm<sup>2</sup> (n = 151). Grupo 4: Fração de cascas do caule  
 381 de *D. lanceolata* 444 µg/cm<sup>2</sup> (n = 189). Grupo 5: Controle (acetona P.A.) (n =  
 382 194).

383

384 No tratamento com cipermetrina (padrão de comparação) houve a  
 385 formação de cinco grupos congêneres ( $\chi^2 = 547,51$ ; df = 5;  $p \leq 0,05$ ), sendo que  
 386 os dados também se aderiram a distribuição de Weibull (D = 0,033848; p =

387 0,4176). O primeiro grupo formado englobou os tratamentos onde foram  
 388 empregadas as concentrações mais altas (4444  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e 2488  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), obtendo-  
 389 se  $\text{TL}_{50}$  de 8,5 h. O segundo grupo representou a concentração de 1333  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ,  
 390 com  $\text{TL}_{50}$  de 21 h. Os grupos três e quatro corresponderam aos tratamentos onde  
 391 foram utilizadas as menores concentrações (800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e 444  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), obtendo-  
 392 se  $\text{TL}_{50}$  superior ao período de avaliação. Enquanto o grupo cinco representou o  
 393 tratamento com acetona (controle negativo) (Figura 7).

394



395

396 Figura 7. Sobrevivência de *Dermanyssus gallinae* ao longo do tempo, submetidos  
 397 a tratamento com cipermetrina, sendo  $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)^\alpha)$ ,  $\delta$  = parâmetro de  
 398 forma;  $\alpha$  = parâmetro de escala. Grupo 1: 4444  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 186) e 2488  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n  
 399 = 224) Grupo 2: 1333  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 241). Grupo 3: 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 247). Grupo 4:  
 400 444  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (n = 221). Grupo 5: Controle negativo (acetona P.A.) (n = 244).

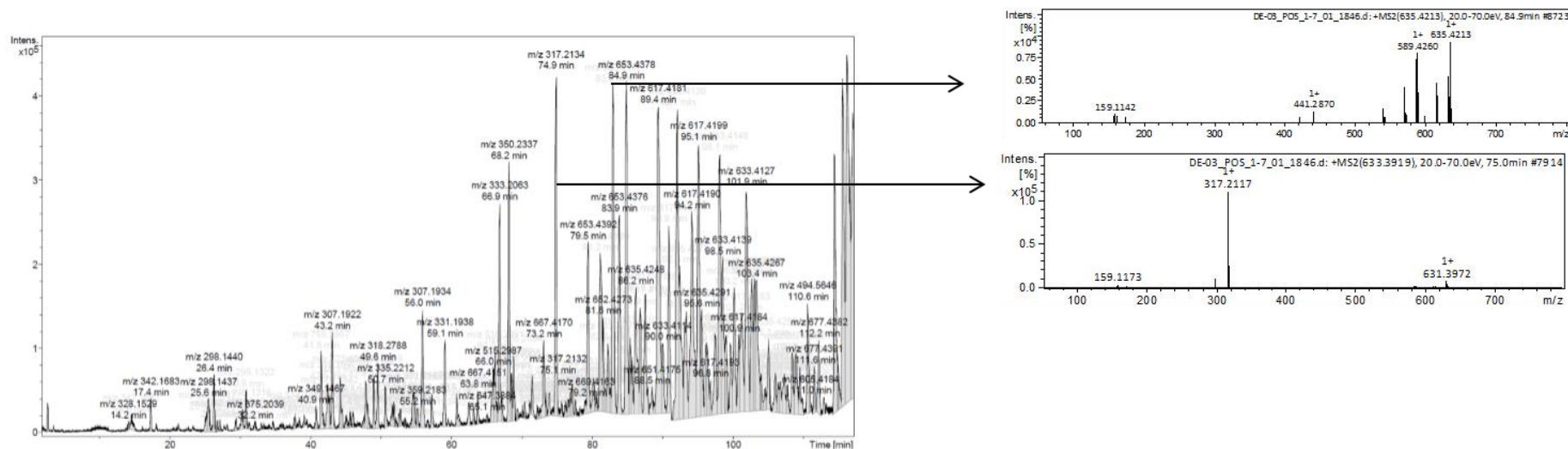
401 Análise exploratória do perfil metabólico de *X. emarginata*

402

403 A análise do espectro obtido por CLAE-EM/EM da fração das cascas do  
404 caule de *X. emarginata* apresentou picos majoritários em 74,9 e 84,9 minutos com  
405 íons moleculares [M+H] após a fragmentação sequencial MS<sup>2</sup> de 317,2117 m/z e  
406 635,4213 m/z respectivamente. Pode-se sugerir que os picos majoritários referem-  
407 se à classe de sesquiterpenos, pois com a análise de fragmentação sequencial  
408 pode-se observar fórmulas moleculares com a presença de 40 átomos de carbono  
409 (C<sub>40</sub>H<sub>x</sub>O<sub>x</sub>). Por ser uma análise exploratória a identificação dos sesquiterpenos  
410 foi parcial, inferindo-se apenas a classe dos metabólitos, sendo necessária a  
411 aplicação de outras técnicas para a determinação e confirmação destas  
412 substâncias. Ressalta-se que foram encontrados outros compostos majoritários,  
413 destacando-se aqueles no tempo de retenção de 83,0, 89,4 e 92,1 minutos com  
414 íons moleculares [M+H] após a fragmentação sequencial MS<sup>2</sup> de 589,4226 m/z,  
415 617,4191 m/z e 587,4099 m/z respectivamente (Figura 8).

416 A análise do espectro de RMN de <sup>1</sup>H apresentou sinais de multipletos na  
417 região entre δ<sub>H</sub> 2,39 – 0,573 característicos da classe de metabólitos  
418 sesquiterpênicos (Fig 9) corroborando com a análise de CLAE-EM/EM.

419

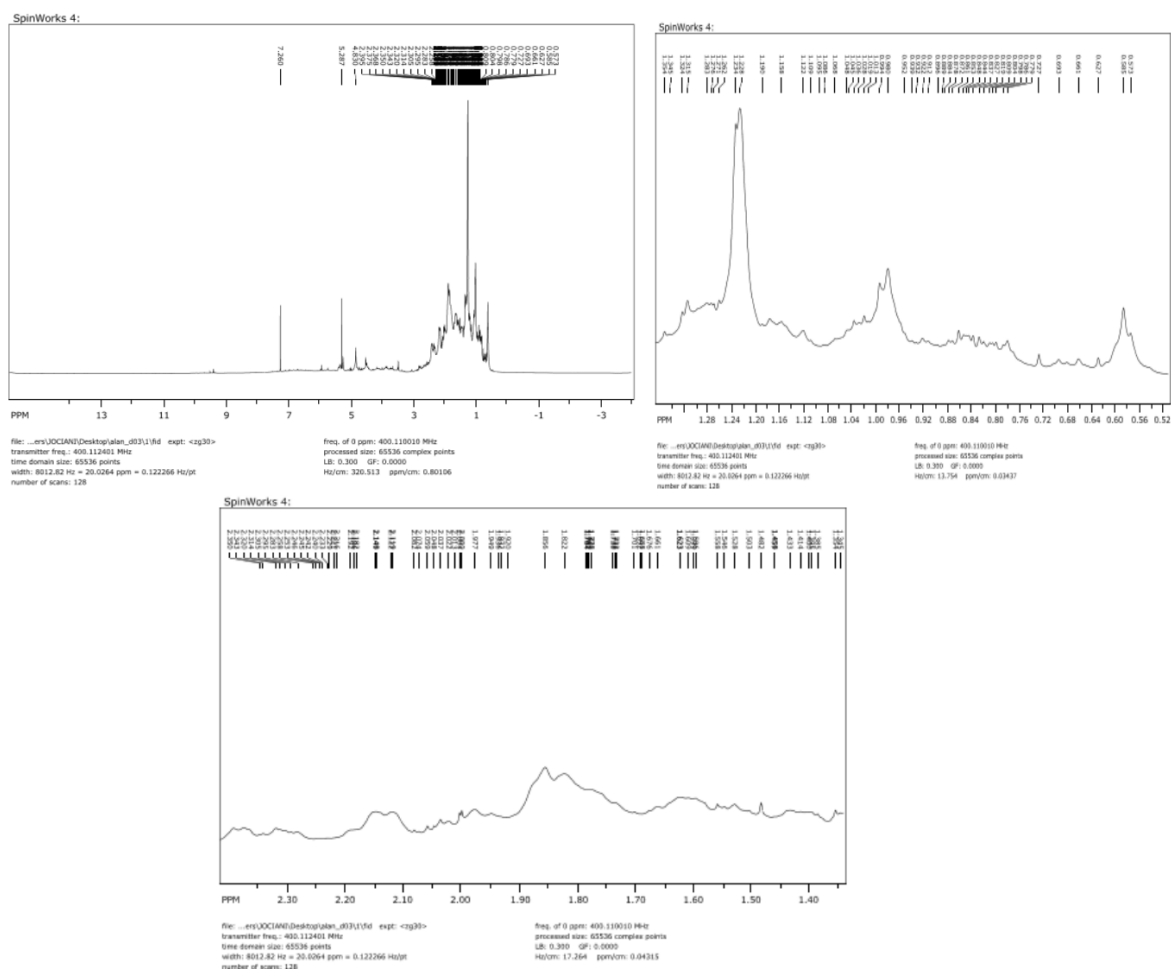


420

421 Figura 8. Fullscan da fração solúvel em diclorometano, proveniente do extrato metanólico, das cascas do caule de *Xylopiamarginata*.

422

423



424

425 Figura 9. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da fração solúvel em diclorometano, proveniente  
 426 do extrato metanólico, das cascas do caule de *Xylopiopsis emarginata*.

427

428 DISCUSSÃO

429

430 Todas as espécies vegetais testadas apresentaram atividade acaricida em  
 431 ensaio tóxico, sendo os resultados mais expressivos verificados para a fração de  
 432 casca do caule de *X. emarginata*.

433 Apesar da escassa literatura envolvendo *X. emarginata*, existem relatos da  
 434 presença de sesquiterpenos (Lago et al. 2005; Moreira et al. 2007), compostos



435 com potencial inseticida e acaricida. Esse fato corrobora os resultados  
436 encontrados no presente trabalho, haja vista que as análises por CLAE-EM/EM  
437 inferiram a presença majoritária de compostos sesquiterpênicos.

438 A atividade de sesquiterpenos contra artrópodes foi relatada para dípteros  
439 de importância médica (Salvador-Neto et al. 2016; Touré et al. 2017) e pragas  
440 urbanas (Ma et al. 2014; Ishii et al. 2017). Menciona-se ainda, sua atividade para  
441 insetos de importância agrícola, como *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera:  
442 Noctuidae), *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), (Ma et al. 2014), e  
443 *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera:Noctuidae) (Kaur et al. 2017)

444 No que se refere a *X. sericea*, a fração proveniente de cascas do caule desta  
445 planta apresentou maior atividade em relação à fração proveniente dos frutos. Isto  
446 difere de Alves et al. (2015), que não constataram atividade acaricida da fração  
447 solúvel em diclorometano proveniente das cascas do caule dessa planta, porém a  
448 fração proveniente dos frutos foi ativa contra *Tetranychus tumidus* Banks. (Acari:  
449 Tetranychidae).

450 É relatado em *X. sericea* a presença de substâncias como mirceno e pineno  
451 (Câmara et al. 1996; Maia et al. 2005), que também são ativas contra artrópodes  
452 (Kim et al. 2013; Kim e Lee 2014; Vourlioti-Arapi 2012).

453 Os resultados, em termos de bioatividade encontrados para a fração das  
454 cascas do caule de *D. lanceolata*, corroboram os obtidos por Alves et al. (2015)  
455 em que foi constatada atividade acaricida dessa fração para *T. tumidus* e  
456 *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae). Além disso, estudos  
457 demonstram a atividade desta espécie contra artrópodes de importância agrícola,  
458 como *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (Ansante et al.

459 2015), *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) (Ribeiro et al. 2016) e  
460 *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Bruchidae) (Gonçalves et al. 2017).

461 Análises do perfil de metabólitos secundários de *D. lanceolata*, realizados  
462 por Alves et al. (2015, 2016), indicaram que algumas das substâncias  
463 responsáveis pela atividade inseticida dessa planta são a *trans*-asarona e o 2,4,5-  
464 trimetoxiestireno.

465 A respeito dessas substâncias, vale ressaltar que o potencial pesticida de  
466 ambas já foi mencionado. No que diz respeito à *trans*-asarona, estudos  
467 mostraram sua atividade para *Nilaparvata lugens* Stal. (Hemiptera: Delphacidae) e  
468 *P. xylostela* (Lee et al. 2002), também para *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae)  
469 (Monin e Nair 2002) e pragas de grãos armazenados, como *Sitophilus oryzae* L.  
470 (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae),  
471 e *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) (Hematpoor et al. 2017).  
472 Com relação à 2,4,5-trimetoxiestireno, menciona-se sua atividade contra  
473 *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae) e *S. zeamais*, ambos  
474 pragas de grãos armazenados (Koono e Bouda 2004).

475 No que diz respeito à ausência de atividade fumigante, apesar de se  
476 conhecer a presença de compostos voláteis nas espécies em estudo (Câmara et  
477 al. 1996; Maia et al. 2005), e ainda, esses compostos apresentarem atividade  
478 fumigante contra outros organismos (Koono e Bouda 2004), no presente trabalho  
479 não foi verificada esta ação. Isto pode ser explicado pela alocação de metabólitos  
480 nas plantas, uma vez que as espécies em questão podem possuir compostos  
481 voláteis com característica pesticida, porém, uma vez que a disponibilidade  
482 desses compostos é mediada por condições fisiológicas e ambientais, as partes  
483 da planta utilizadas ou mesmo o organismo como um todo, podem não possuir

484 esses metabólitos, ou mesmo possuir, porém em quantidades não suficientes  
485 para provocar o efeito desejado. E ainda, embora muitos extratos vegetais  
486 possam apresentar compostos voláteis, essa condição é mais frequentemente  
487 encontrada em óleos essenciais (Gonçalves et al. 2003; Hall 2006; Whitehead et  
488 al. 2013).

489 Por fim, ressalta-se que para a fração proveniente das cascas do caule de *X.*  
490 *emarginata* causar mortalidade em 50% da população, foi necessária uma  
491 concentração 73% mais baixa em comparação com o controle positivo  
492 (cipermetrina). Em trabalhos com derivados vegetais, valores de CL<sub>50</sub> inferiores a  
493 controles positivos, realizados com produtos comerciais, são reportados na  
494 literatura, porém através da metodologia de toxicidade de contato com papel filtro  
495 (Tabari et al. 2015). A exemplo disso, Kim et al. (2007) encontraram valores de  
496 CL<sub>50</sub> superiores a 5.000 µg/cm<sup>2</sup>, ao se utilizar a alfa-cipermetrina e permetrina em  
497 bioensaios com *D. gallinae*, corroborando os resultados encontrados no presente  
498 trabalho.

499 Esse fato reforça a importância de estudos com espécies vegetais, que  
500 possam contribuir para o isolamento de novas moléculas acaricidas que venham  
501 a ser empregadas no desenvolvimento de produtos mais efetivos contra *D.*  
502 *gallinae*.

503 Assim, conclui-se que as espécies avaliadas no presente estudo apresentam  
504 atividade acaricida contra *D. Gallinae*, com destaque para *X. emarginata*. No  
505 entanto, são necessários mais estudos a fim de isolar o composto responsável  
506 por tal ação, bem como avaliações sobre a segurança para a saúde humana,  
507 inimigos naturais e ambiente.

## 508 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 509 Álvarez-Colom O, Barrachina I, Mingol IA, Mas MCG, Sanz PM, Neske A, Bardon  
510 A (2008) Toxic effects of annonaceous acetogenins on *Oncopeltus fasciatus*. J  
511 Pest Sci 81:85-89.
- 512 Álvarez-Colom O, Neske A, Chahboune N, Zafra-Polo MC, Bardon A (2009)  
513 Tucupentol, a novel mono-tetrahydrofuranic acetogenin from *Annona montana*, as  
514 a potent inhibitor of mitochondrial complex I. Chem Biodivers 6:335-340.
- 515 Álvarez-Colom O, Neske A, Popich S, Bardón A (2007) Toxic effects of  
516 annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on  
517 *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J Pest Sci 80:63-67.
- 518 Alves DS, Machado ART, Campos VAC, Oliveira DF, Carvalho GA (2016)  
519 Selection of Annonaceae species for the control of *Spodoptera*  
520 *frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and metabolic profiling of *Duguetia*  
521 *lanceolata* using nuclear magnetic resonance spectroscopy. J Econ Entomol  
522 109:649-659.
- 523 Alves DS, Morejón RC, Teixeira Machado ART, Carvalho GA, Pina O, Oliveira DF  
524 (2015) Atividade acaricida de frações de anonáceas para *Tetranychus tumidus* e  
525 *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) e perfil metabólito de *Duguetia*  
526 *lanceolata* (Annonaceae) por CG-EM. Semin Cien Agrar 36:4119-4132.
- 527 Ansante TF, do Prado Ribeiro L, Bicalho KU, Fernandes JB, Vieira PC,  
528 Vendramim JD (2015) Secondary metabolites from neotropical Annonaceae:  
529 screening, bioguided fractionation, and toxicity to *Spodoptera frugiperda* (JE  
530 Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Ind Crops Prod 74:969-976.
- 531 Beugnet F, Chauve C, Gauthey M, Beert L (1997) Resistance of the red poultry  
532 mite to pyrethroids in France. Vet Rec 140:577-579.

- 533 Câmara CAG, de Alencar JW, Silveira ER (1996) Volatile constituents of *Xylopia*  
534 *sericea* St. Hill. J Essent Oil Res 8:75-78.
- 535 Cantrell CL, Dayan FE, Duke SO (2012) Natural products as sources for new  
536 pesticides. J Nat Prod 75:1231-1242.
- 537 El-Wakeil NE (2013) Botanical pesticides and their mode of action. Gesunde  
538 Pflanz 65:125-149.
- 539 European Commission - Joint Research Centre (2017) Fipronil in eggs. IOP  
540 Publishing PhysicsWeb.  
541 [http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC110632/2017\\_factshe](http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC110632/2017_factsheet_fipronil_final.pdf)  
542 [et\\_fipronil\\_final.pdf](http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC110632/2017_factsheet_fipronil_final.pdf). Accessed 01 February 2018.
- 543 Finney DJ (1971) Probit analysis. Cambridge University, London.
- 544 Flochlay AS, Thomas E, Sparagano O (2017) Poultry red mite (*Dermanyssus*  
545 *gallinae*) infestation: a broad impact parasitological disease that still remains a  
546 significant challenge for the egg-laying industry in Europe. Parasit Vectors 10:357.
- 547 Gonçalves GLP, de Cássia Domingues V, do Prado Ribeiro L, Fernandes JB, das  
548 Graças Fernandes MDF, Forim MR, Vendramim JD (2017) Compounds from  
549 *Duguetia lanceolata* St.-Hil.(Annonaceae) bioactive against *Zabrotes subfasciatus*  
550 (Boheman) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). Ind Crops Prod 97:360-367.
- 551 Gonçalves LA, Barbosa LCA, Azevedo AA, Casali VWD, Nascimento EA (2003)  
552 Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.)  
553 em resposta a dois níveis de radiação solar. Rev Bras Pl Med 6:8-14.
- 554 Hall RD (2006). Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. New  
555 Phytol 169:453-468.
- 556 Hamscher G, Prie B, Hartung J, Nogosseck MI, Glünder G, Nau H (2003)  
557 Determination of propoxur residues in eggs by liquid chromatography-diode array

- 558 detection after treatment of stocked housing facilities for the poultry red mite  
559 (*Dermanyssus gallinae*). Anal Chim Acta 483:19-26.
- 560 Hematpoor A, Liew SY, Azirun MS, Awang K (2017) Insecticidal activity and the  
561 mechanism of action of three phenylpropanoids isolated from the roots of *Piper*  
562 *sarmentosum* Roxb. Sci Rep 7:12576.
- 563 Ishii T, Nagamine T, Nguyen BCQ, Tawata S (2017) Insecticidal and Repellent  
564 Activities of Laurinterol from the Okinawan Red Alga *Laurencia nidifica*. Rec Nat  
565 Prod 11:63-68.
- 566 Isman MB (2006) Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern  
567 agriculture and an increasingly regulated world. Annu Rev Entomol 51:45-66.
- 568 Isman MB, Seffrin R (2014) Natural insecticides from the Annonaceae: a unique  
569 example for developing biopesticides. In: Singh D (ed) Advances in plant  
570 biopesticides, Springer, New Delhi, pp 21-33.
- 571 Kaur M, Kumar R, Upendrabhai DP, Singh IP, Kaur S (2017) Impact of  
572 sesquiterpenes from *Inula racemosa* (Asteraceae) on growth, development and  
573 nutrition of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Pest manag sci 73:1031-  
574 1038.
- 575 Kim SI, Lee D-W (2014) Toxicity of basil and orange essential oils and their  
576 components against two coleopteran stored products insect pests. J Asia Pac  
577 Entomol 17:13-17.
- 578 Kim SI, Na YE, Yi JH, Kim BS, Ahn YJ (2007) Contact and fumigant toxicity of  
579 oriental medicinal plant extracts against *Dermanyssus gallinae* (Acari:  
580 Dermanyssidae). Vet Parasitol 145:377-382.
- 581 Kim SI, Yi JH, Tak JH, Ahn YJ (2004) Acaricidal activity of plant essential oils  
582 against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Vet Parasitol 120:297-304.

- 583 Kim S-W, Kang J, Park I-K (2013) Fumigant toxicity of Apiaceae essential oils and  
584 their constituents against *Sitophilus oryzae* and their acetylcholinesterase  
585 inhibitory activity. J Asia Pac Entomol 16:443-448.
- 586 Koona P, Bouda H (2004) Activity of 2, 4, 5-trimethoxystyrene from  
587 *Pachypodanthium staudtii* against two stored product pests. Tropical science  
588 44:120-123.
- 589 Kowalski A, Sokot R (2009) Influence of *Dermanyssus gallinae* (poultry red mite)  
590 invasion on the plasma levels of corticosterone, catecholamines and proteins in  
591 layer hens. Pol J Vet Sci 12:231-235.
- 592 Krinski D, Massaroli A, Machado M (2014) Potencial inseticida de plantas da  
593 família Annonaceae. Rev Bras Frutic 36:225-242.
- 594 Lago JHG, Reis AA, Martins D, Cruz FG, Roque NF (2005) Composition of the  
595 leaf oil of *Xylopia emarginata* Mart. (Annonaceae). J Essent Oil Res 17:622-623.
- 596 Lee HK, Park C, Ahn YJ (2002) Insecticidal activities of asarones identified in  
597 *Acorus gramineus* rhizome against *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae)  
598 and *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutoidea). Appl Entomol Zool 37:459-  
599 464.
- 600 Ma Z, Li Y, Wu L, Zhang X (2014) Isolation and insecticidal activity of  
601 sesquiterpenes alkaloids from *Tripterygium wilfordii* Hook f. Ind Crops Prod 52:  
602 642-648.
- 603 Maciel AG, Rodrigues JS, Trindade RC, Silva ES, Sant'Ana AE, Lemos EE (2015)  
604 Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus*  
605 *urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). Afr Journal Agric Res 10:4370-4375.
- 606 Madhumitha G, Rajakumar G, Roopan SM, Rahuman AA, Priya KM, Saral AM,  
607 Khan FRN, Khanna VG, Velayutham K, Jayaseelan C, Kamaraj C, Elango G

- 608 (2012) Acaricidal, insecticidal, and larvicidal efficacy of fruit peel aqueous extract  
609 of *Annona squamosa* and its compounds against blood-feeding parasites.  
610 Parasitol Res 111:2189-2199.
- 611 Maia JGS, Andrade EHA, da Silva ACM, Oliveira J, Carreira LMM, Araújo JS  
612 (2005) Leaf volatile oils from four Brazilian *Xylopi*a species. Flavour Frag J 20:474-  
613 477.
- 614 Marangi M, Cafiero MA, Capelli G, Camarda A, Sparagano OAE, Giangaspero A  
615 (2009) Evaluation of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*, Acarina:  
616 Dermanyssidae) susceptibility to some acaricides in a field population from Italy.  
617 Exp Appl Acarol 48:11-18.
- 618 Marangi M, Morelli V, Pati S, Camarda A, Cafiero MA, Giangaspero A (2012)  
619 Acaricide residues in laying hens naturally infested by red mite *Dermanyssus*  
620 *gallinae*. Plos One 7:e31795
- 621 Monin RA, Nair MG (2002) Pest-managing efficacy of trans-asarone isolated from  
622 *Daucus carota* L. seeds. J Agric Food Chem 50:4475-4478.
- 623 Moreira IC, Roque NF, Contini K, Lago JHG (2007) Sesquiterpenos e  
624 hidrocarbonetos dos frutos de *Xylopi*a *emarginata* (Annonaceae). Braz J  
625 Pharmacog 17:55-58.
- 626 Moreira IC, Roque NF, Vilegas W, Zalewski CA, Lago JHG, Funasaki M (2013)  
627 Genus *Xylopi*a (Annonaceae): Chemical and biological aspects. Chem Biodivers  
628 10:1921-1943.
- 629 Moro CV, De Luna CJ, Tod A, Guy JH, Sparagano OAE, Zenner L (2009) The  
630 poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic  
631 agents. Exp Appl Acarol 48:93-104.



- 632 Nordenfors HH, Oglund J, Tauson R, Chirico J (2001) Effects of permethrin  
633 impregnated plastic strips on *Dermanyssus gallinae* in loose housing systems for  
634 laying hens. *Vet Parasitol* 102:121-131.
- 635 Pritchard J, Kuster T, Sparagano O, Tomley F (2015) Understanding the biology  
636 and control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*: a review. *Avian Pathol*  
637 44:143-153.
- 638 R Development Core Team (2017) R: a language and environment for statistical  
639 computing. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://www.Rproject.org>. Accessed 01  
640 August 2017.
- 641 Rezende LC, Cunha LM, Teixeira CM, Oliveira PRO, Martins NRS (2013) Mites  
642 affecting hen egg production – some considerations for Brazilian farms. *Cienc*  
643 *Rural* 43:1230-1237.
- 644 Ribeiro LP, Vendramim JD, Padoan Gonçalves GL, Ansante TF, Micotti da Gloria  
645 E, de Carvalho Lopes J, Batista Fernandes J (2016) Searching for promising  
646 sources of grain protectors in extracts from Neotropical Annonaceae. *B Latinoam*  
647 *Caribe PI* 15:4.
- 648 Ritz C (2013) Package ‘drc’: analysis of dose-response curve data. IOP Publishing  
649 PhysicsWeb. <http://cran.r-project.org/web/packages/drc/drc.pdf>. Accessed 10  
650 December 2017.
- 651 Salvador-Neto O, Gomes SA, Soares AR, Machado FLDS, Samuels RI, Nunes da  
652 Fonseca R, Souza-Menezes J, Moraes JLC, Campos E, Mury FB, Silva JR (2016)  
653 Larvicidal potential of the halogenated sesquiterpene (+)-obtusol, isolated from the  
654 alga *Laurencia dendroidea* J. Agardh (Ceramiales: Rhodomelaceae), against the  
655 Dengue vector mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae). *Mar*  
656 *Drugs* 14:20.

- 657 Tabari MA, Youssefi MR, Barimani A, Araghi A (2015) Carvacrol as a potent  
658 natural acaricide against *Dermanyssus gallinae*. Parasitol Res 114: 3801-3806.
- 659 Taylor MA, Coop RL, Wall RL (2007) Parasitologia Veterinária. Guanabara  
660 Koogan, Rio de Janeiro.
- 661 Therneau TM (2013) A Package for Survival: survival analysis. Version 2.37-7.  
662 IOP Publishing PhysicsWeb. <http://CRAN.Rproject.org/package=survival>.  
663 Accessed 01 August 2017.
- 664 Touré S, Nirma C, Falkowski M, Dusfour I, Boulogne I, Jahn-Oyac A, Coke M,  
665 Azam D, Girod R, Moriou C, Odonne G, Stein D, Houël E, Eparvier V (2017)  
666 *Aedes aegypti* Larvicidal Sesquiterpene Alkaloids from *Maytenus oblongata*. J Nat  
667 Prod 80:384-390.
- 668 Vieira PC, Mafezoli J, Biavatti MW (2001) Inseticidas de origem vegetal. In:  
669 Ferreira, J. T. B., Corrêa, A. G., Vieira, P. C. Produtos naturais no controle de  
670 insetos. Ed. da UFSCar, São Carlos, pp176.
- 671 Vourlioti-Arapi F (2012) Essential oils of indigenous in Greece six *Juniperus* taxa:  
672 Chemical composition and larvicidal activity against the West Nile virus vector  
673 *Culex pipiens*. Parasitol Res 110:1829-1839.
- 674 Whitehead SR, Jeffrey CS, Leonard MD, Dodson CD, Dyer LA, Bowers MD (2013)  
675 Patterns of secondary metabolite allocation to fruits and seeds in *Piper*  
676 *reticulatum*. J Chem Ecol 39:1373-1384.
- 677 Zeman P, Zelezny J (1985) The susceptibility of the poultry red mite,  
678 *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778), to some acaricides under laboratory  
679 conditions. Exp Appl Acarol 1:17-22.

## Normas – Parasitology Research

### Authorship Policy

Authorship should incorporate and should be restricted to those who have contributed substantially to the work in one or more of the following categories:

- Conceived of or designed study
- Performed research
- Analyzed data
- Contributed new methods or models
- Wrote the paper

Please note:

Submitting authors should refrain from resubmitting manuscripts that were rejected before by this Journal, **unless the content has been notably improved**. Unimproved manuscripts will be **rejected** right away.

### Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

### Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

## Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

## Costs of Colour Illustrations

- Online publication of color illustrations is always free of charge.

## Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, and telephone number(s) of the corresponding author
- If available, the 16-digit ORCID of the author(s)

## Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

## Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

## Text

### Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.

- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

- LaTeX macro package (zip, 181 kB)

### Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

### Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

### Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

### Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

Important note:

Authors are requested to **use automatic continuous line numbering throughout the manuscript and in double space.**

Scientific style

Please always use internationally accepted signs and symbols for units (SI units).

Nomenclature

The International Code of Zoological Nomenclature (ICZN) must be observed. Genus and species names should be in italics. Authors of scientific names of the genus and species group should not be italicized. At first mention, a specific name should be cited with nomenclatural author and year, e.g. *Catenula lemnae* (in italics) Dugès, 1832. When three or more joint authors have been responsible for a name, then the citation of the name of the authors may be expressed by use of the term "et al." following the name of the first author, provided that all authors of the name are cited in full elsewhere in the same work, either in the text or in a bibliographic reference. Authors unfamiliar with the taxonomy of the group to which a species belongs should consult an expert to ensure that it is properly identified and that the correct name is used.

References

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995a, b; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999, 2000).

## Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work. Order multi-author publications of the same first author alphabetically with respect to second, third, etc. author. Publications of exactly the same author(s) must be ordered chronologically.

- Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

- Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. <https://doi.org/10.1007/s001090000086>

- Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

- Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

- Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

- Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

- ISSN LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

- EndNote style (zip, 2 kB)

## Tables

- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

## Artwork and Illustrations Guidelines

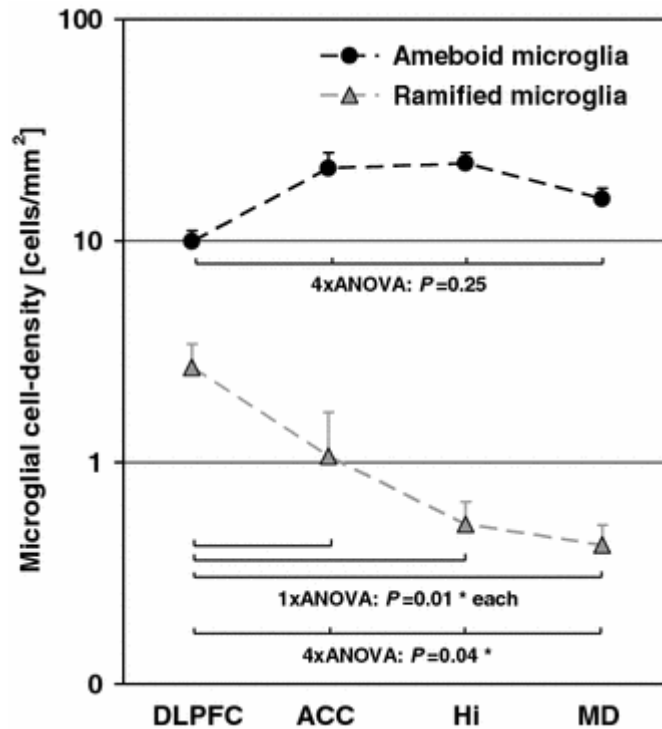
### Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.



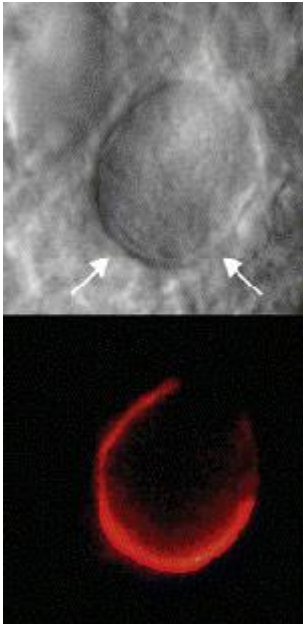
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

## Line Art



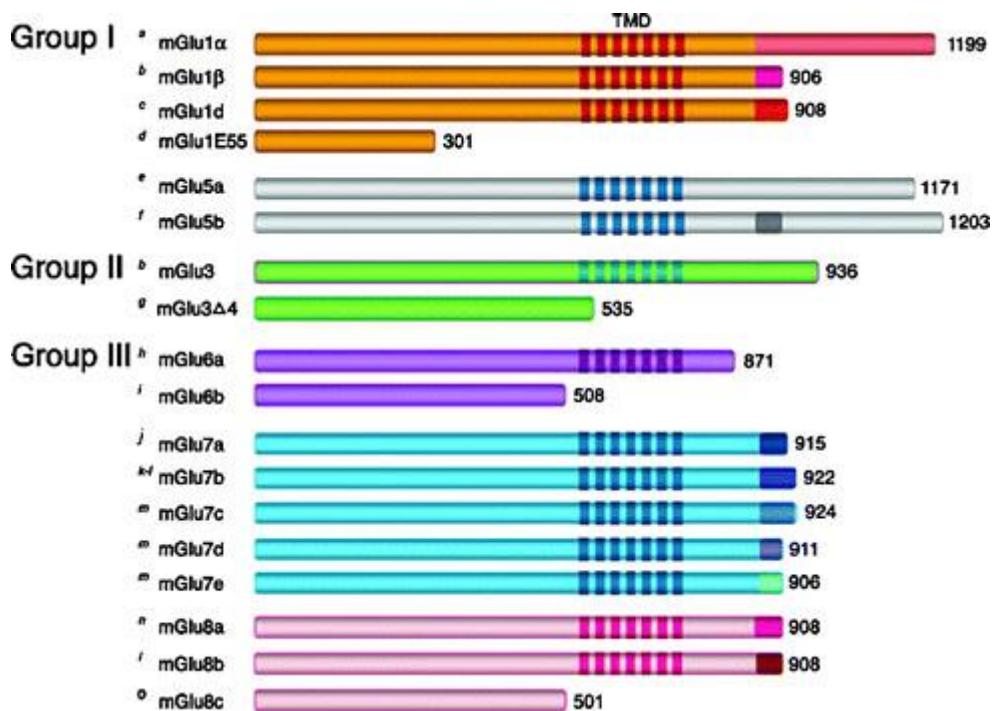
- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

## Halftone Art



- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

## Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

#### Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

#### Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

#### Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures,

"A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

## Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

## Figure Placement and Size

- Figures should be submitted separately from the text, if possible.
- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

## Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

## Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

### Electronic Supplementary Material

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

### Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

### Audio, Video, and Animations

- Aspect ratio: 16:9 or 4:3
- Maximum file size: 25 GB
- Minimum video duration: 1 sec
- Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

### Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

### Spreadsheets

- Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

### Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

### Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

### Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., “... as shown in the animation (Online Resource 3)”, “... additional data are given in Online Resource 4”.
- Name the files consecutively, e.g. “ESM\_3.mpg”, “ESM\_4.pdf”.

### Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

### Processing of supplementary files

- Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

## Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

## Ethical Responsibilities of Authors

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct. Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

- The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling (“self-plagiarism”).
- A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salami-publishing”).
- No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions
- No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near

verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

**Important note:** the journal may use software to screen for plagiarism.

- Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute/organization where the work has been carried out, **before** the work is submitted.
- Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.
- Authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission. Changes of authorship or in the order of authors are **not** accepted **after** acceptance of a manuscript.
- Adding and/or deleting authors and/or changing the order of authors **at revision stage** may be justifiably warranted. A letter must accompany the revised manuscript to explain the reason for the change(s) and the contribution role(s) of the added and/or deleted author(s). Further documentation may be required to support your request.
- Requests for addition or removal of authors as a result of authorship disputes after acceptance are honored after formal notification by the institute or independent body and/or when there is agreement between all authors.
- Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential proprietary data is excluded.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation



seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief's implementation of the following measures, including, but not limited to:

- If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.
- If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note. Please note that retraction means that the paper is **maintained on the platform**, watermarked "retracted" and explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article.
- The author's institution may be informed.

#### Compliance with Ethical Standards

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled "Compliance with Ethical Standards" when submitting a paper:

- Disclosure of potential conflicts of interest
- Research involving Human Participants and/or Animals
- Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned guidelines.

#### Disclosure of potential conflicts of interest

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests **that are directly or indirectly related to the research** may include but are not limited to the following:

- Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)
- Honoraria for speaking at symposia
- Financial support for attending symposia
- Financial support for educational programs
- Employment or consultation
- Support from a project sponsor
- Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships
- Multiple affiliations
- Financial relationships, for example equity ownership or investment interest
- Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)

- Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found here:

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

See below examples of disclosures:

**Funding:** This study was funded by X (grant number X).

**Conflict of Interest:** Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Research involving human participants and/or animals

#### 1) Statement of human rights

When reporting studies that involve human participants, authors should include a statement that the studies have been approved by the appropriate institutional and/or national research ethics committee and have been performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards.

If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the 1964 Helsinki Declaration or comparable standards, the authors must explain the

reasons for their approach, and demonstrate that the independent ethics committee or institutional review board explicitly approved the doubtful aspects of the study.

The following statements should be included in the text before the References section:

**Ethical approval:** “All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.”

For retrospective studies, please add the following sentence:

“For this type of study formal consent is not required.”

## 2) Statement on the welfare of animals

The welfare of animals used for research must be respected. When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals have been followed, and that the studies have been approved by a research ethics committee at the institution or practice at which the studies were conducted (where such a committee exists).

For studies with animals, the following statement should be included in the text before the References section:

**Ethical approval:** “All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.”

If applicable (where such a committee exists): “All procedures performed in studies involving animals were in accordance with the ethical standards of the institution or practice at which the studies were conducted.”

If articles do not contain studies with human participants or animals by any of the authors, please select one of the following statements:

“This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.”

#### Informed consent

All individuals have individual rights that are not to be infringed. Individual participants in studies have, for example, the right to decide what happens to the (identifiable) personal data gathered, to what they have said during a study or an interview, as well as to any photograph that was taken. Hence it is important that all participants gave their informed consent in writing prior to inclusion in the study. Identifying details (names, dates of birth, identity numbers and other information) of the participants that were studied should not be published in written descriptions, photographs, and genetic profiles unless the information is essential for scientific purposes and the participant (or parent or guardian if the participant is incapable) gave written informed consent for publication. Complete anonymity is difficult to achieve in some cases, and informed consent should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of participants is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic profiles, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning.

The following statement should be included:

**Informed consent:** “Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.”

If identifying information about participants is available in the article, the following statement should be included:

“Additional informed consent was obtained from all individual participants for whom identifying information is included in this article.”

#### English Language Editing

For editors and reviewers to accurately assess the work presented in your manuscript you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. If you need help with writing in English you should consider:

- Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.

- Visiting the English language tutorial which covers the common mistakes when writing in English.
- Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing Service and American Journal Experts. Springer authors are entitled to a 10% discount on their first submission to either of these services, simply follow the links below.
- English language tutorial
- Nature Research Editing Service
- American Journal Experts

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in this journal and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.

If your manuscript is accepted it will be checked by our copyeditors for spelling and formal style before publication.

#### After acceptance

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

#### Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

- Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

## Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

## Color illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

## Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

## Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

## Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

- Open Choice

### Copyright and license term – CC BY

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.