

Importância dos monoterpenos oxigenados na ação inseticida das frações do óleo de *Piper aduncum* L.

Alyce Camille da Silva Marques⁽¹⁾, Murilo Fazolin⁽²⁾, Juliana Almeida Silva⁽¹⁾ e André Fábio Medeiros Monteiro⁽³⁾

⁽¹⁾ Bolsistas, Embrapa Acre, Rio Branco, AC. ⁽²⁾ Pesquisador, Embrapa Acre, Rio Branco, AC. ⁽³⁾ Analista, Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

Resumo – Piperáceas como *Piper aduncum* L. são abundantes no Acre, sendo o processo de industrialização semelhante ao utilizado para obtenção do óleo rico em safrol a partir de *Piper hispidinervum* C.DC. O óleo essencial de *P. aduncum* (Oepa) possui em sua composição o dilapiol, obtido por destilação e, posteriormente, submetido à retificação fracionada, utilizando coluna de recheio. Na aplicação dessa técnica, obtêm-se três frações principais. Este trabalho teve como objetivo avaliar, por meio de adição de *blends* de compostos, a importância dos monoterpenos oxigenados na ação inseticida das frações do óleo essencial de *P. aduncum*. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre, no período de agosto de 2023 a junho de 2024, utilizando larvas de terceiro instar da espécie *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae). A retirada dos monoterpenos oxigenados da fração terpênica não interferiu na toxicidade em nenhuma das proporções avaliadas. Em relação à fração intermediária, a retirada dos monoterpenos oxigenados no *blend* completo aumentou a toxicidade somente na proporção de 2,0% (V/V). A retirada dos monoterpenos oxigenados da fração propanoica diminuiu significativamente a toxicidade na proporção de 25,0% (V/V).

Termos para indexação: dilapiol, *blend*, terpenoides.

Importance of oxygenated monoterpenes in the insecticidal action of *Piper aduncum* L. oil fractions

Abstract – Species of *Piperaceae*, such as *Piper aduncum* L., are abundant in the state of Acre, Brazil, and the industrialization process resembles that used to obtain safrole-rich oil from *Piper hispidinervum* C.DC. The essential oil of *P. aduncum* (Oepa) comprises dillapiole, extracted by distillation and subsequently, was subject to fractional rectification using a packing column. Three main fractions were obtained using this technique. This study aimed to evaluate the significance of oxygenated monoterpenes in the insecticidal action of *P. aduncum* essential oil fractions through the addition of compound blends. Experiments were carried out in the Entomology Laboratory of Embrapa Acre, from August 2023 to June 2024, using third-instar larvae of *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae) in all bioassays. The removal of oxygenated monoterpenes from the terpene fraction did not affect toxicity in any evaluated proportions. In relation of the intermediate fraction, the removal of oxygenated monoterpenes increased toxicity only at a 2.0% (V/V) proportion. However, removing oxygenated monoterpenes from the propanoic fraction significantly reduced toxicity at a 25.0% (V/V) proportion.

Index terms: dillapiole, blend, terpenoids.

Introdução

A aplicação de pesticidas convencionais muitas vezes acarreta degradação ambiental e resistência a pragas (Damalas; Koutroubas, 2018). É provável que a resistência possa se desenvolver mais lentamente para pesticidas à base de óleo essencial devido às misturas complexas de muitos constituintes de diferentes grupos e com distintos modos de ação sobre os insetos (Nollet; Rathore, 2017). Piperáceas como *Piper aduncum* L. são abundantes no Acre, sendo o processo de industrialização semelhante ao utilizado para obtenção do óleo rico em safrol a partir de *Piper hispidinervum* C.DC. (Fazolin et al., 2006).

Durante o processo de ajuste do teor de dilapiol para que o Oepa expresse a máxima ação inseticida, são produzidas diferentes frações utilizando o processo de destilação fracionada. Na aplicação dessa técnica, obtêm-se três frações principais classificadas em: terpênica, intermediária e propanoica (Fazolin et al., 2024).

Caso não seja investigada a utilização de todas as frações do Oepa, algumas delas poderão se tornar resíduos descartáveis.

A ação de monoterpenos oxigenados como carvacrol e timol, por exemplo, está relacionada à interação com Gaba (ácido γ -aminobutírico), principal neurotransmissor inibitório no sistema nervoso central e periférico dos insetos (Tong; Coats, 2010).

Para avaliar a influência desse grupo de compostos sobre o efeito inseticida das frações do Oepa, constitui objetivo deste trabalho a avaliação da atividade inseticida das frações terpênica (F1), intermediária (F2) e propanoica (F3) de Oepa quando enriquecidas inicialmente com *blends* completos com 36 compostos ou posteriormente com *blends* incompletos, em que houve a retirada dos monoterpenos oxigenados.

Material e métodos

O óleo essencial foi obtido em um extrator, utilizando o princípio de arraste de vapor em um sistema de caldeira aquecida a diesel. O óleo essencial de *P. aduncum* obtido por destilação foi submetido à retificação fracionada. Na aplicação dessa técnica para a purificação do Oepa, obtiveram-se três frações, as quais foram submetidas ao enriquecimento com *blends* completos ou incompletos de distintos grupos de compostos para avaliações de interferência biológica quanto à ação inseticida.

As frações foram submetidas à análise por cromatografia gasosa (detector DIC) acoplada ao espectrômetro de massa (CG-EM). Após a caracterização química de cada uma das três frações do Oepa (teores de dilapiol de 26,0, 59,1 e 85,3%, respectivamente), para enriquecê-las, foi elaborado um *blend* completo pela combinação de 36 compostos em quantidades equivalentes (1:1) presentes na composição original de Oepa ou nos óleos essenciais do gênero *Piper*, adquiridos na sua forma purificada da empresa Sigma Aldrich Brasil. Foram utilizados 7 fenilpropanóides: anetol, eugenol, miristicina, *p*-anisaldeído, (*E*)-cinamaldeído, sarisan e dilapiol; 12 monoterpenos: (-)- β -pineno, (-)- α -pineno, (+)-limoneno, (+)-3-careno, mirceno, *o*-cimeno, *p*-cimeno, sabineno, terpinoleno, α -felandreno, α -terpineno, γ -terpineno; 15 monoterpenos oxigenados: (-)-terpinen-4-ol, *L*-carvona, (+)-carvona, citronelal, (-)-endo-borneol, carvacrol, neral, eucaliptol (1,8 cineol), geraniol, isoborneol, *L*-linalol, *L*-mentona, timol e α -terpineol; 1 sesquiterpeno: (β -cariofileno); e 2 sesquiterpenos oxigenados: nerolidol e óxido de cariofileno.

Para avaliação da influência de cada grupo de compostos sobre a atividade sinérgica da composição, foram elaborados *blends* incompletos combinados com cada fração nas proporções de 2,0, 10,0 e 25,0% retirando-se o grupo de compostos dos monoterpenos oxigenados.

Inicialmente, foram obtidas faixas de resposta para o inseto-teste (Finney, 1971). A partir daí, foram estabelecidas entre cinco e seis concentrações, além de um controle (solvente acetona). Após a obtenção das DL_{50} das frações não enriquecidas isoladamente, foram realizadas as combinações dos *blends* completos ou incompletos de compostos com as três frações do óleo essencial. Os bioensaios consistiram na aplicação dorsal de 1 μ l nas lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) com auxílio de uma microsseringa graduada. As lagartas foram confinadas em placas de Petri (5,0 x 1,5 cm), mantidas em câmara climatizada BOD à temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70,0 \pm 5,0\%$ e fotofase de 12 horas, até o momento da avaliação da mortalidade dos indivíduos (no mínimo 24 horas). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições.

Para todos os bioensaios, os dados de mortalidade de concentração-resposta foram submetidos à análise de Probit, utilizando-se o programa estatístico SAS (SAS Institute, 2001). Os valores de mortalidade foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925). Intervalos de confiança (IC

com $p > 95,0\%$) dos valores das DL_{50} foram utilizados para definir a significância da diferença entre os tratamentos. De modo similar, a eficácia inseticida das formulações de *blends* incompletos, sem os monoterpenos oxigenados (2,0, 10,0 e 25,0% (V/V)) combinados com as frações, foi comparada com as formulações dos *blends* completos combinados com as frações.

Resultados e discussão

A toxicidade das frações do Oepa foi decrescendo em função da diminuição do teor de dilapiol na composição das frações. Tais resultados confirmam os obtidos por Fazolin et al. (2022) que definiram a faixa de maior toxicidade do óleo em função do teor de dilapiol por contato tópico do produto entre 68,0 e 88,0% para larvas de terceiro instar de *S. frugiperda*. Considerando-se os intervalos de confiança de cada tratamento, houve diferença significativa entre as três frações entre si, evidenciando o nítido acréscimo de toxicidade em função do teor de dilapiol contido em cada uma delas.

Considerando-se o enriquecimento completo da fração terpênica, pode-se observar que a combinação mais tóxica ocorreu quando a adição do *blend* completo de compostos foi de 10,0% na composição dessa fração. Entretanto, não houve diferença significativa em relação a essa fração combinada com 2,0, 10,0 e 25,0% (V/V) do *blend* de compostos incompletos pela ausência de monoterpenos oxigenados.

Para a fração intermediária, pode-se observar que a combinação mais tóxica ocorreu quando a adição do *blend* de compostos foi incompleta pela ausência de monoterpenos oxigenados na proporção de 2,0% (V/V) na composição dessa fração. Não houve diferença significativa entre a toxicidade da fração terpênica enriquecida com *blend* completo a 10,0 e 25,0% (V/V) em relação à adição do *blend* sem os monoterpenos oxigenados. A fração intermediária combinada com *blends* completos ou incompletos de compostos não diferiu quanto à fração intermediária sem adição de nenhum composto nas proporções 10,0 e 25,0% (V/V).

Quanto à fração propanoica, não houve diferença significativa entre as toxicidades das combinações com o *blend* completo e incompleto pela ausência dos monoterpenos oxigenados. Exceção feita na combinação dessa fração com os *blends* a 25,0% (V/V), cuja ausência dos monoterpenos oxigenados aumentou significativamente a sua toxicidade. É possível inferir, nesse caso, que a adição do *blend* completo na proporção 25,0% pode ter ultrapassado

o limite aceitável dos monoterpenos oxigenados em relação aos demais compostos químicos da fração. Isso pode ter interferido na modulação do neurotransmissor inibitório no sistema nervoso central e periférico dos insetos, conforme era previsto devido aos resultados de Tong e Coats (2010). Nesse caso, pode ser esperado um efeito antagonico dos monoterpenos oxigenados quando adicionados à fração propanoica na forma de *blend*.

Conclusões

- 1) A retirada dos monoterpenos oxigenados do *blend* completo não interferiu na toxicidade da fração terpênica para o inseto-alvo em nenhuma das proporções avaliadas.
- 2) A retirada dos monoterpenos oxigenados no *blend* aumentou a toxicidade da fração intermediária para o inseto-alvo somente na proporção de 2,0% (V/V).
- 3) A retirada dos monoterpenos oxigenados no *blend* diminuiu significativamente a toxicidade da fração propanoica para o inseto-alvo na proporção de 25,0% (V/V).

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de iniciação científica.

Referências

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, Apr. 1925. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- DAMALAS, C. A.; KOUTROUBAS, S. D. Current status and recent developments in biopesticide use. **Agriculture**, v. 8, n. 1, p. 13, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/agriculture8010013>.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; COSTA, C. R. da. **Potencialidades da pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.)**: características gerais e resultados de pesquisa. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2006. 53 p. (Embrapa Acre. Documentos, 103). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/505568>. Acesso em: 20 out. 2024.
- FAZOLIN, M.; MONTEIRO, A. F. M.; BIZZO, H. R.; GAMA, P. E.; VIANA, L. de O.; LIMA, M. E. C. de. Insecticidal activity of *Piper aduncum* oil: variation in dillapiole content and chemical and toxicological stability

during storage. **Acta Amazonica**, v. 52, n. 3, p. 179-188, 2022. DO: <https://doi.org/10.1590/1809-4392202102292>.

FAZOLIN, M.; NEGREIROS, J. R. da S.; COSTA, C. R. da. **Orientações técnicas para a produção de óleo essencial de *Piper aduncum* L.** Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2024. 53 p. (Embrapa Acre. Documentos, 182). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1167301>. Acesso em: 20 out. 2024.

FINNEY, D. J. **Probit analysis**. London: Cambridge University, 1971. 33 p.

NOLLET, L. M. L.; HATHORE, H. S. **Green pesticides handbook: essential oils for pest control**. Boca Raton: CRC Press, 2017. 554 p.

SAS INSTITUTE. **User's guide: statistics**, version 8.2. 6. ed. Cary, NC: SAS Institute, 2001.

TONG, F.; COATS, J. R. Effects of monoterpenoid insecticides on [3H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and ³⁶Cl⁻ uptake in American cockroach ventral nerve cord. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 98, n. 3, p. 317-324, Nov. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.07.003>.