

## Frações do Óleo Essencial de *Piper aduncum* L. Utilizadas como Sinérgicas de Inseticidas Fosforado e Benzoilureia

Natália da Silva Maisforte<sup>1</sup>, André Fábio Medeiros Monteiro<sup>2</sup> e Murilo Fazolin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Licenciatura em Ciências Biológicas, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre, bolsista do CNPq na Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

<sup>2</sup>Biólogo, mestre em Ecologia, analista da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

<sup>3</sup>Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

**Resumo** – O óleo essencial de *Piper aduncum* L. (Oepa) possui em sua composição compostos considerados sinérgicos pertencentes aos grupos químicos: fenilpropanoides, monoterpenos e sesquiterpenos. Para avaliar o efeito sinérgico das diferentes composições de suas frações (F) utiliza-se a destilação fracionada ou retificação para a separação. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia sinérgica das frações do Oepa, combinadas com inseticidas químicos clorpirifós (fosforado) por contato tópico e residual e lufenuron (benzoilureia) por contato tópico. Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre, sendo utilizadas lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em todos eles. Por contato tópico nenhuma das frações do Oepa, quando combinadas com o princípio ativo clorpirifós, apresentou efeito sinérgico significativo. A maioria das frações do Oepa sinergizou, por contato residual, o princípio ativo clorpirifós, independentemente da concentração subletal da CL<sub>50</sub> considerada. Por contato tópico todas as frações do Oepa avaliadas apresentaram efeito sinérgico significativo quando combinadas com o princípio ativo lufenuron. Por contato tópico F4 (terpênica) e F22 (fenilpropanoica) tomadas nas doses subletais ¼ e ½ das respectivas DL<sub>50</sub> apresentaram expressiva magnitude sinérgica quando combinadas com o princípio ativo lufenuron.

Termos para indexação: dilapiol, sinergismo, terpenos.

### Introdução

Piperáceas como *Piper aduncum* L. são abundantes no estado do 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). O óleo essencial dessa espécie (Oepa) é composto, majoritariamente, pelo fenilpropanoide dilapiol (Fazolin et al., 2007), cuja estrutura química apresenta o grupo metilenodioxifenil a dois grupos metoxila (OCH<sub>3</sub>).

Os compostos considerados sinérgicos presentes no Oepa pertencem aos grupos químicos: fenilpropanoides, monoterpenos e sesquiterpenos. Para avaliar as diferentes composições das frações do Oepa a destilação fracionada ou retificação é a mais indicada, sendo o processo de separação mais aplicado industrialmente para o fracionamento de óleos essenciais.

Ação do sinergista minimiza a quantidade de inseticida químico necessária para o controle de insetos, pois age como um substrato alternativo, interferindo negativamente na destoxificação. Inseticidas seletivos como os inibidores de biossíntese de quitina, particularmente as benzoilfenilureas como o lufenuron, são opções de interesse aos produtores, pois, mesmo apresentando ação lenta quando comparados a inseticidas neurotóxicos, atuam principalmente na cutícula do inseto, exercendo ação tóxica sobre as formas imaturas, especialmente durante a ecdise, quando as anomalias sobre a deposição de quitina podem acarretar muitas vezes dificuldades para liberação da exúvia o que causa a morte do inseto (Beeman, 1982).

Como a resistência aos inseticidas reguladores de crescimento está geralmente relacionada, dentre outros fatores, a outros grupos químicos de princípios ativos, é esperada a curto prazo a evolução da resistência da lagarta-do-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), também ao triflumuron no Brasil. A posição dominante de butóxido de piperonila no mercado tem sido atribuída a diversos fatores, dentre os quais uma alta eficácia como sinergista das principais classes de inseticidas piretroides, carbamatos, organofosforados e reguladores de crescimento de insetos (Adams, 1995; Tozzi, 1999).

Com isso, os resultados aqui obtidos poderão, no futuro, servir de referência na formulação de um produto comercial com uma composição determinada eficaz como inseticida de origem vegetal, mantendo os padrões de qualidade química exigidos pelo mercado de agroquímicos.

Tais resultados apontam a potencialidade desses compostos como sinérgicos de inseticidas convencionais, motivando assim a investigação da potencialidade de uso das frações do Oepa para tal finalidade, o que constitui o objetivo da presente proposta.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia sinérgica das frações do óleo essencial de *P. aduncum*, ricas em monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, associadas aos princípios ativos inseticidas clorpirifós e lufenuron, por contato tóxico e residual em lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda*.

## Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre, no município de Rio Branco, Acre. Em todos os bioensaios, lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* foram utilizadas, sendo criadas em laboratório em dieta artificial, conforme metodologia proposta por Cruz (2000). Os princípios ativos utilizados, clorpirifós (fosforado) e lufenuron (benzoilureia), foram adquiridos na Sigma-Aldrich.

Para obtenção do óleo essencial, plantas de *P. aduncum* foram coletadas em área de produção da Embrapa Acre, separando-se somente as folhas e talos finos para secagem. O óleo essencial foi obtido em um extrator, utilizando o princípio de arraste de vapor em um sistema de caldeira aquecida a diesel, adaptada de Pimentel e Silva (2000). O armazenamento ocorreu em recipientes de vidros âmbar em sala refrigerada entre 22 °C–25 °C (para minimização da perda de compostos voláteis antes das análises).

Os óleos essenciais obtidos foram redestilados por meio do sistema de retificação fracionada, utilizando coluna de recheio. O processo teve a duração de 4 horas e a cada 15 minutos houve as coletas das frações de Oepa para posterior estudo biológico e de caracterização química. Para a identificação e quantificação dos constituintes químicos (óleos essenciais, frações e metabólitos isolados), foram realizadas análises em cromatografia gasosa utilizando detector DIC acoplado ao espectrômetro de massa (CG-EM).

As avaliações toxicológicas foram realizadas por meio de bioensaios preliminares ou definitivos. Os testes preliminares foram realizados com o propósito de determinar os padrões ideais dos seguintes fatores: tempo de exposição dos insetos aos compostos, volume do produto a ser utilizado e número de insetos por tratamento. Em seguida, foram estabelecidas entre cinco e sete concentrações de cada composto e das combinações com dilapiol, além de um controle (solvente acetona). Todas as concentrações foram usadas nos bioensaios definitivos de curva de concentração-mortalidade e

determinação da concentração ou dose com probabilidade de causar 50% de mortalidade ( $CL_{50}$  e  $DL_{50}$ ) para cada composto testado.

Em todos os bioensaios definitivos, lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* foram confinadas isoladamente em placas de Petri (5,0 cm x 1,5 cm) mantidas em câmara climatizada à temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\% \pm 5\%$  e fotofase de 12 horas, até o momento da avaliação da mortalidade dos indivíduos. O tempo de exposição dos insetos aos tratamentos foi de 24 horas considerando-se a mortalidade cumulativa no período.

O efeito sinérgico das combinações de ingrediente ativo + frações do Oepa foi avaliado em relação à combinação ingrediente ativo + butóxido de piperonila. Foi considerado significativo quando não houve sobreposição dos intervalos de confiança a 95% das  $CL_{50}$  ou  $DL_{50}$  das combinações de inseticida com as frações de Oepa comparadas àquela combinação de inseticida com butóxido de piperonila.

## Resultados e discussão

Nas frações consideradas mistas (F7 e F9), ou seja, em que há pelo menos dois grupos químicos com teores acima de 20%, observou-se que a F9 apresenta o maior valor de terpenos (70,7%).

No contato tópico das combinações das frações do Oepa com o inseticida clorpirifós, mesmo considerando a baixa magnitude dos valores dos fatores de sinergismo (FS) em todas as combinações sinérgicas, incluindo a combinação com o PBO, não houve significância desses valores entre as frações avaliadas e o inseticida clorpirifós.

No contato residual das combinações das frações do Oepa com o inseticida clorpirifós, a única fração que não apresentou efeito sinérgico significativo, quando combinada com o clorpirifós, foi a F9 dose subletal  $\frac{1}{4}$  da sua  $CL_{50}$ , cujo valor do fator de sinergismo (FS) foi de 2,2. As demais frações apresentaram efeito significativo quando comparadas ao butóxido de piperonila. Destaca-se a F34 dose subletal da sua  $CL_{50}$ ,  $\frac{1}{2}$  e  $\frac{1}{4}$ , que apresentou, além da significância, valores de FS com magnitude elevada em relação aos demais tratamentos (73,0 e 109,7, respectivamente).

Na avaliação por contato tópico das combinações das frações do Oepa com o inseticida lufenuron, todas as frações, independentemente das doses subletais utilizadas na combinação, sinergizaram significativamente o inseticida lufenuron. As F4 e F22, nas doses subletais  $\frac{1}{4}$  e  $\frac{1}{2}$  das respectivas  $DL_{50}$ , apresentaram valores do fator de sinergismo com magnitude expressiva em relação as demais combinações de frações com esse inseticida.

Esse cenário de eficácia foi totalmente modificado ao se observar os valores significativos de FS quando a contaminação das larvas foi realizada por contato residual, utilizando-se as mesmas frações do Oepa com clorpirifós. Por outro lado, tanto a F7 considerada mista como a F34 considerada fenilpropanoica apresentaram, além da significância sinérgica, valores expressivamente elevados de FS. No caso da F7 esse resultado pode estar relacionado a um suposto efeito aditivo que ocorreu concomitantemente ao efeito sinérgico.

Já para a F22 o expressivo efeito sinérgico de sua combinação com o lufenuron pode ser atribuído à predominância em sua composição dos fenilpropanoides (dilapiol e miristicina), uma vez que existe considerável volume de avaliações experimentais que apontam esses compostos como inibidores de uma ou mais famílias de enzimas destoxificativas de insetos (Lichtenstein et al., 1974; Bernard et al., 1990, 1993; Qin et al., 2010).

## Conclusões

Por contato tópico nenhuma das frações do Oepa, quando combinadas com o princípio ativo clorpirifós, apresentou efeito sinérgico significativo.

Com exceção da F9 (mista), concentração subletal  $\frac{1}{4}$  da sua  $CL_{50}$ , as demais frações do Oepa sinergizaram, por contato residual, o princípio ativo clorpirifós, independentemente da concentração subletal da  $CL_{50}$  considerada.

Por contato residual a F7 (mista) e a F34 (fenilpropanoica), ambas na concentração subletal  $\frac{1}{2}$  da  $CL_{50}$ , apresentaram expressivo sinergismo quando combinadas com o princípio ativo clorpirifós.

Por contato tópico todas as frações do Oepa avaliadas apresentaram efeito sinérgico significativo quando combinadas com o princípio ativo lufenuron.

Por contato tópico a F4 (terpênica) e F22 (fenilpropanoica), nas doses subletais  $\frac{1}{4}$  e  $\frac{1}{2}$  das respectivas  $DL_{50}$ , apresentaram expressiva magnitude sinérgica quando combinadas com o princípio ativo lufenuron.

## Agradecimento

Os autores agradecem aos colaboradores do Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro por meio da bolsa de iniciação científica ao primeiro autor.

## Referências

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectroscopy**. Illinois: Allured Publishing Corporation, 1995. 325 p.
- BEEMAN, R. W. Recent advances in mode of action of insecticides. **Annual Review of Entomology**, v. 27, p. 253-281, Jan. 1982. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.27.010182.001345>.
- BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; LAM, J.; WADDEL, T. *In vivo* effect of mixtures of allelochemicals in the life cycle of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 57, n. 1, p. 17-22, Oct. 1990. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1990.tb01411.x>.
- BERNARD, C. B.; PHILOGÈNE, B. J. R. Insecticide synergists: role, importance, and perspectives. **Journal of Toxicology and Environmental Health: Part A Current Issues**, v. 38, n. 2, p. 199-223, Feb. 1993. DOI: <https://doi.org/10.1080/15287399309531712>.
- CRUZ, I. Métodos de criação de agentes entomófagos de *Spodoptera frugiperda* (J E Smith). In: BUENO, V. H. P. (ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Viçosa: Ufla, 2000. Cap. 7, p. 111-135.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALECIO, M. R.; LIMA, M. S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C.DC., *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur.& K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 113-120, fev. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542007000100017>.
- 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: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/505568>. Acesso em: 20 jul. 2022.

LICHTENSTEIN, E. P.; LIANG, T. T.; SCHULZ, K. R.; SCHNOES, H. K.; CARTER, G. T. Insecticidal and synergistic components isolated from dill plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, n. 4, p. 658-664, July 1974. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf60194a037>.

PIMENTEL, F. A.; SILVA, M. R. da. **Recomendações sobre processo de destilação comercial de biomassa triturada de pimenta longa (*Piper hispidinervum*)**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2000. 3 p. (Embrapa Acre. Comunicado técnico, 123). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/492672>. Acesso em: 20 jul. 2022.

QIN, W.; HUANG, S.; LI, C.; CHEN, S.; PENG, Z. Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb. (Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Hispididae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, n. 3, p. 132-139, Mar. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.10.006>.

TOZZI, A. A brief history of the development of piperonyl butoxide as an insecticide synergist. In: JONES, D. G. (ed.). **Piperonyl butoxide: the insecticide synergist**. Cambridge, MA: Academic Press, 1999. p. 1-5.