

# Aumento do Desempenho Sinérgico do Óleo Essencial de *Piper aduncum* L. pelo Enriquecimento de suas Frações Terpênicas – Organofosforado

Maria Érica Costa de Lima<sup>1</sup>, Murilo Fazolin<sup>2</sup>, Natália da Silva Maisforte<sup>3</sup>,  
e André Fábio Medeiros Monteiro<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Engenharia Agrônômica, Universidade Federal do Acre,  
bolsista do Pibic/CNPq na Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

<sup>2</sup>Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

<sup>3</sup>Graduanda em Licenciatura em Ciências Biológicas, Instituto Federal do Acre,  
bolsista do Pibiti/CNPq na Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

<sup>4</sup>Biólogo, mestre em Ecologia, analista da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

**Resumo** – A evolução da resistência do lepidóptero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é constatada para um número significativo de princípios ativos inseticidas (organofosforados, ciclodienos organoclorados, piretroides e piretrinas) no Brasil. A utilização de sinergistas pode ser considerada no manejo da resistência, podendo os óleos essenciais sinergizar inseticidas pela capacidade de inibição de enzimas metabólicas detoxificativas. Há evidências de que o óleo essencial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) (Oepa), rico em dilapiol, sinergiza inseticidas de diferentes grupos químicos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia sinérgica de frações terpênicas do Oepa, enriquecidas com um *blend* de compostos, combinadas com o inseticida dursban, da classe dos organofosforados. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre. Em todos os bioensaios, foram utilizadas larvas de terceiro instar de *S. frugiperda*. A fração terpênica do Oepa sem enriquecimento apresentou efeito sinérgico quando combinada ao inseticida dursban e com enriquecimento de 2% do *blend* de compostos teve efeito aditivo quando combinada ao inseticida dursban para o modo de contaminação via contato tópico. A fração terpênica, independentemente do enriquecimento, tem como vantagem desacelerar a evolução da população resistente quando combinada ao inseticida dursban.

Termos para indexação: controle químico, pimenta-de-macaco, sinérgico.

## Introdução

A espécie de lagarta *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) ataca severamente 52 cultivos diferentes, dentre eles cana-de-açúcar, milho, pastagens e soja, com reflexos diretos relacionados a produtos de exportação do agronegócio brasileiro. A evolução da resistência dessa espécie no Brasil foi constatada para os seguintes princípios ativos inseticidas: organofosforados, ciclodienos organoclorados, piretroides e piretrinas (Oliveira, 2017).

A resistência a inseticidas em populações de insetos está relacionada com a frequência de seu uso e é resultante da pressão seletiva desses compostos tóxicos sobre essas populações, como também das características herdadas das espécies envolvidas. A utilização de sinergistas pode ser considerada uma ferramenta adequada e capaz de mitigar a evolução da resistência dos insetos relacionada principalmente aos mecanismos bioquímicos. Os óleos essenciais podem sinergizar inseticidas pela capacidade de inibição de enzimas metabólicas detoxificativas, relacionadas ao mecanismo bioquímico de resistência. Com isso, há evidências de que o óleo essencial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) (Oepa), rico em dilapiol, sinergiza inseticidas de diferentes grupos químicos (Fazolin et al., 2017).

Para avaliar as diferentes composições das frações do Oepa utilizou-se a destilação fracionada ou retificação, por ser o processo mais indicado e amplamente adotado industrialmente para o fracionamento de óleos essenciais. No processo de fracionamento do Oepa realizado pela Embrapa Acre, têm-se obtido cinco frações em média, sendo duas delas ricas em terpenoides, uma mista e duas frações finais ricas em dilapiol e outros fenilpropanoides. Este trabalho teve como objetivo avaliar a magnitude sinérgica de frações terpênicas do Oepa enriquecidas com um *blend* de compostos, em combinação com o inseticida dursban (organofosforado).

## Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre. Em todos os bioensaios, foram utilizadas lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda*, criadas em laboratório em dieta artificial, conforme metodologia proposta por Cruz (2000). O componente ativo inseticida purificado dursban (organofosforado) e o *blend* de compostos foram adquiridos na empresa Sigma Aldrich.

O Oepa foi obtido utilizando o princípio de arraste de vapor da biomassa seca de plantas de *P. aduncum*, em um sistema de caldeira aquecida a diesel, adaptada de Pimentel e Silva (2003), e redistilado por meio do sistema de retificação fracionada, usando um equipamento piloto construído pela Ercitec Ltda. Após a alimentação da dorna de aquecimento com o óleo essencial, houve sucessivos acréscimos de temperatura que variaram de 270 °C a 350 °C. O processo teve a duração de 4 horas e foram obtidas três frações (F1, F2, F3), sendo utilizada a F1 (fração terpênic) para avaliar a identificação e quantificação dos constituintes químicos, por meio de análises em cromatógrafo gasoso (detector DIC), acoplado ao espectrômetro de massa (CG-EM).

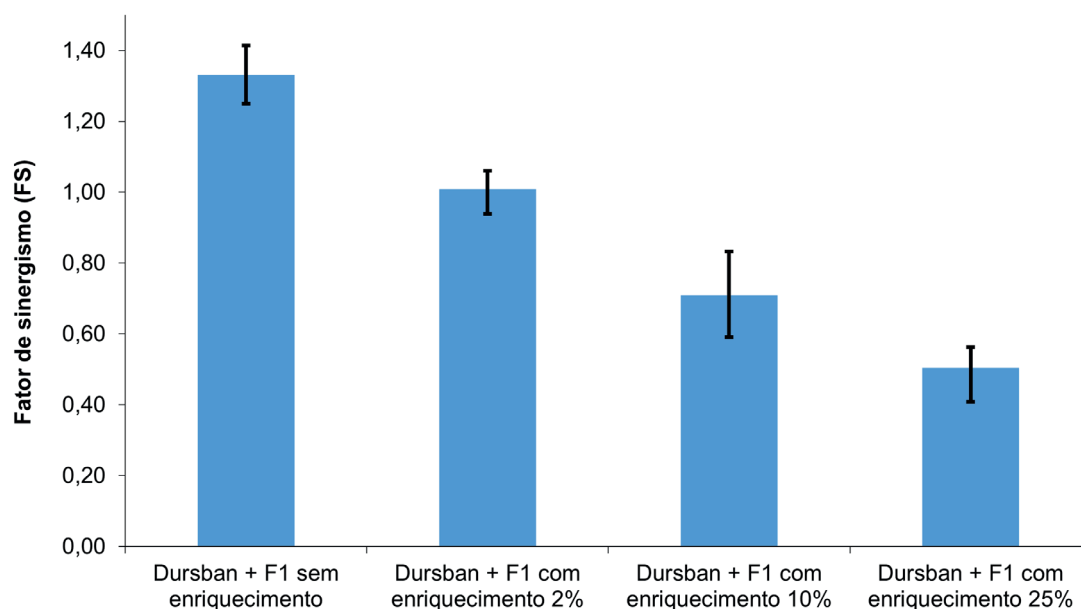
O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. As condições ambientais e inseto-alvo utilizado, determinação das doses e concentrações letais, montagem dos bioensaios toxicológicos por contato tópico e a estatística experimental foram replicados do trabalho de Fazolin et al. (2017). Foram utilizados os valores das inclinações da reta e coeficientes angulares obtidos pela análise de Probit (SAS Institute, 2001), para o inseticida dursban e suas combinações com a fração terpênic do Oepa, sem enriquecimento e com enriquecimento, com um *blend* de compostos.

Foi avaliado o efeito do inseticida dursban tomado de forma isolada, efeito sinérgico da fração terpênic sem enriquecimento e efeito sinérgico da fração terpênic formulada a partir da adição de um *blend* de compostos (borneol, óxido de cariofileno, camphene, isoborneol, timol, sarisan, limonene, dilapiol, citral,  $\alpha$ -pineno, ocimene, s-carvone, L-carvone, anethol, terpinen-4-ol, terpinolene,  $\alpha$ -phellandrene,  $\alpha$ -terpineol, L-menthone, nerolidol,  $\alpha$ -terpinene, p-anisaldehyde,  $\beta$ -pineno, citronelal,  $\gamma$ -terpinene, sabinene,  $\beta$ -caryophyllene, myrcene, eucalyptol, carvacrol, 3-carene, eugenol, geraniol, trans-cinamaldeido, p-cymene e l-linalool) em diferentes concentrações (2%, 10% e 25%) na combinação com o inseticida dursban comparado por meio da  $DL_{50}$  das combinações.

Por meio do cálculo do fator de sinergismo,  $FS = CL_{50} \text{ i.a. inseticida} / CL_{50} \text{ i.a. inseticida} + CL_{50} \text{ do inseticida sinergizado}$  (Guedes et al., 1995), foi obtida a eficácia sinérgica das combinações avaliadas. O efeito sinérgico foi considerado significativo quando não houve sobreposição dos intervalos de confiança a 95% das  $CL_{50}$  das combinações avaliadas (Van Frankenhuyzen, 2009), sendo os valores acima de 1 indicadores de sinergismo, iguais a 1, aditivismo, e abaixo de 1, antagonismo (Abbassy et al., 2009).

## Resultados e discussão

O significativo valor do fator de sinergismo para a combinação de dursban com a fração terpênic sem enriquecimento (Figura 1) pode estar relacionado com a ação conjunta dos monoterpenos presentes na composição dessa fração. Os monoterpenos  $\beta$ -pineno inibem enzimas esterases (Yeom et al., 2012), assim como o linalol é responsável por inibir enzimas monoxigenases (P450) e esterases (Ruttanaphan et al., 2019) e o composto terpinen-4-ol pode atuar na inibição de esterases e glutathione s-transferase (Waliwitiya et al., 2012). Além disso, tal resultado pode ser explicado devido a esse último composto apresentar resultados positivos para sinergismo, observados nas combinações com os inseticidas profenofós (fosforado) e metomil (carbamato), ambos necessitando dos mesmos grupos enzimáticos para sua metabolização/eliminação do corpo dos insetos.

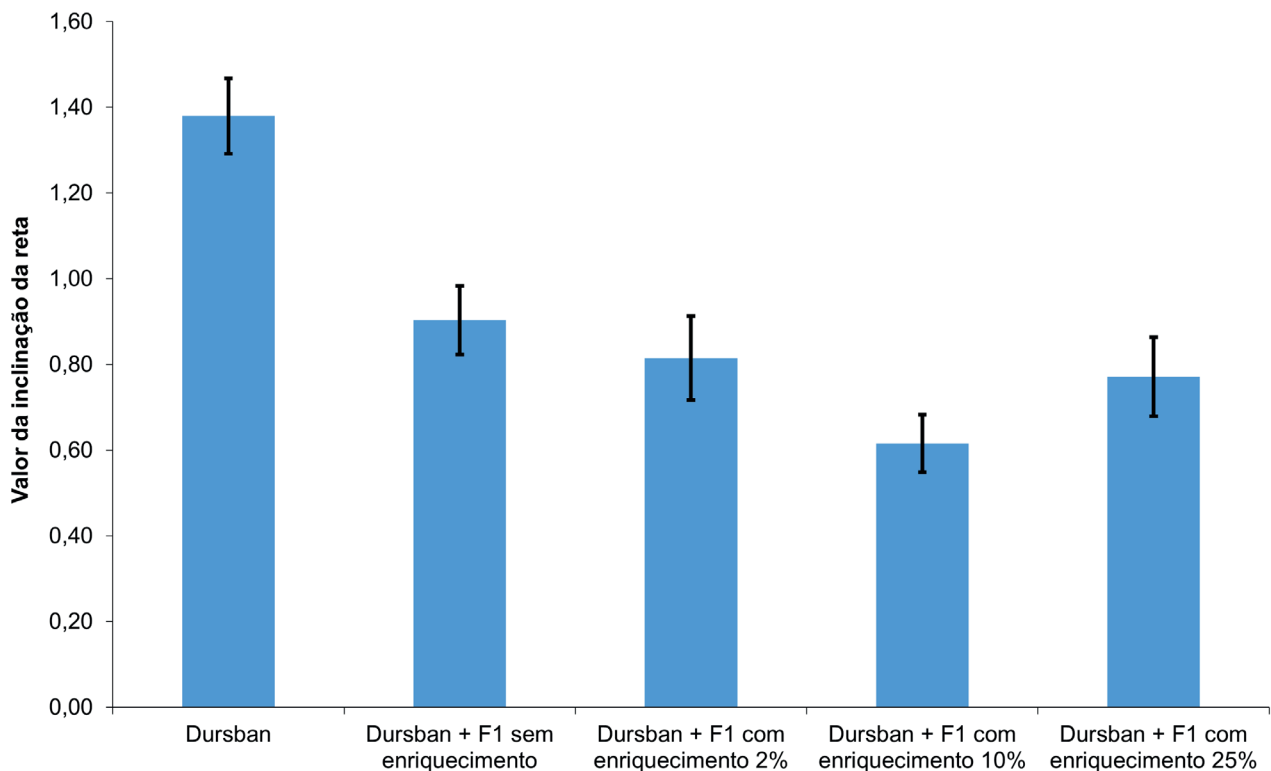


**Figura 1.** Fatores de sinergismo do inseticida dursban combinado com a fração terpênic do óleo essencial de *Piper aduncum* sem enriquecimento e com enriquecimento a 2%, 10% e 25% com um *blend* de compostos.

O resultado da combinação do inseticida dursban com a fração terpênic com enriquecimento a 2% de *blend* (Figura 1) pode estar relacionado ao efeito aditivo causado pela ação inseticida de um ou mais monoterpenos ( $\beta$ -pineno, linalol, terpinen-4-ol) presentes na fração, ou ainda à ação dos compostos utilizados para o enriquecimento que são reconhecidamente inibidores das enzimas detoxificativas monoxigenases P450 e esterases, como o dilapiol (Fazolin et al., 2017), eugenol, citronelal, timol (Waliwitiya et al., 2012), 1,8-cineol, linalol (Ruttanaphan et al., 2019), geraniol,  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -terpineno,  $\beta$ -mirceno (De-Oliveira et al., 1997), limoneno (Abdelgaleil et al., 2009) e  $\beta$ -pineno (Yeom et al., 2012).

Apesar da ausência de significância dos valores dos fatores de sinergismo, para as combinações de dursban com a fração terpênica com enriquecimento (10% e 25%) (Figura 1), seria esperado um elevado efeito sinérgico, uma vez que organofosforados são inseticidas que agem inibindo a ação da enzima acetilcolinesterase, assim como há ação sinérgica de alguns compostos utilizados para o enriquecimento, como o dilapiol, que tem maior possibilidade de suceder o butóxido de piperonila (PBO) sintético (Walia et al., 2004). Além disso, o dilapiol apresenta potencial para sinergizar um grande número de princípios ativos de diferentes grupos químicos de inseticidas (metilcarbamatos, organofosforados, piretroides e neonicotinoides), elaborados comercialmente na forma de misturas prontas de princípios ativos, e de inseticidas naturais como piretro, nim e tenulin.

Quando comparado o inseticida de forma isolada, com as combinações avaliadas, é perceptível um decréscimo na inclinação da reta (Figura 2), cujo valor foi significativamente maior que nos tratamentos submetidos às combinações sinérgicas do inseticida com a fração terpênica, independentemente do nível de enriquecimento da fração. Não houve diferenças significativas entre os valores da inclinação da reta de todas as combinações da fração com o inseticida dursban. Tal resultado indica a resposta de uma população heterogênea que pode influenciar em menor velocidade de seleção dessa população de insetos para a evolução da resistência, quando comparado ao inseticida fosforado considerado de forma isolada (Hoskins; Gordon, 1956).



**Figura 2.** Valores das inclinações da reta do inseticida dursban em comparação com a fração terpênica do óleo essencial de *Piper aduncum* sem enriquecimento e com enriquecimento a 2%, 10% e 25% com um *blend* de compostos.

## Conclusões

A fração terpênica do óleo essencial de *Piper aduncum* (Oepa) sem enriquecimento apresentou efeito sinérgico quando combinada ao inseticida dursban.

A fração terpênica, independentemente do enriquecimento, apresenta a vantagem de desacelerar a evolução da população resistente quando combinada ao inseticida dursban.

## Agradecimento

Os autores agradecem a todos os colaboradores do Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de iniciação científica à primeira autora.

## Referências

ABBASSY, M. A.; ABDELGALEIL, S. A.; RABIEL, R. Y. Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 131, n. 3, p. 225-232, May 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2009.00854.x>.

ABDELGALEIL, S. A. M.; MOHAMEDMOHAMED, M. E. I.; EL-ARAMI, B. A. A. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 5, p. 518-525, May 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9635-3>.

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. Lavras: UFLA, 2000. p. 111-135.

DE-OLIVEIRA, A. C.; RIBEIRO-PINTO, L. F.; PAUMGARTTEN, F. J. In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by  $\beta$ -myrcene and other monoterpenoid compounds. **Toxicology Letters**, v. 92, n. 1, p. 39-46, June 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(97\)00034-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(97)00034-9).

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MONTEIRO, A. F. M.; SILVA, I. M.; GOMES, L. P. Sinérgico alternativo para inseticidas inibidores de acetilcolinesterase. **Revista Agro@mbiente On-Line**, v. 11, n. 3, p. 232-240, jul./set. 2017. DOI: <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v11i3.3995>.

GUEDES, R. N.; PICANÇO, M. C.; GUEDES, N. M. P.; MADEIRA, N. R. Sinergismo do óleo mineral sobre a toxicidade de inseticidas para *Scrobipalpula absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 313-318, mar. 1995. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/4309>. Acesso em: 15 jul. 2022.

HOSKINS, W. M.; GORDON, H. T. Arthropod resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology**, v. 1, n. 1, p. 89-122, Jan. 1956. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.01.010156.000513>.

OLIVEIRA, I. M. **Resistência de artrópodos de importância agrícola ao controle químico**. 2017. 78 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

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, 2003. 3 p. (Embrapa Acre. Comunicado técnico, 123). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/492672>. Acesso em: 15 jul. 2022.

RUTTANAPHAN, T.; PLUEMPANUPAT, W.; AUNGSIRISAWAT, C.; BOONYARIT, P.; GOFF, G. L.; BULLANGPOTI, V. Effect of plant essential oils and their major constituents on cypermethrin tolerance associated detoxification enzyme activities in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 5, p. 2167-2176, Oct. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/toz126>.

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

VAN FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 101, n. 1, p. 1-16, Apr. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.02.009>.

WALIA, S.; SAHA, S.; PARMAR, B. S. Liquid chromatographic method for the analysis of two plant based insecticide synergists dillapiole and dihydrodillapiole. **Journal of Chromatography A**, v. 1047, n. 2, p. 229-233, Aug. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.009>.

WALIWIWIYA, R.; NICHOLSON, R. A.; KENNEDY, C. J.; LOWENBERGER, C. A. The synergistic effects of insecticidal essential oils and piperonyl butoxide on biotransformational enzyme activities in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 3, p. 614-623, May 2012. DOI: <https://doi.org/10.1603/me10272>.

YEOM, J. H.; KANG, J. S.; KIM, G. H.; PARK, II-K. Insecticidal and acetylcholine esterase inhibition activity of Apiaceae plant essential oils and their constituents against adults of German cockroach (*Blattella germanica*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 29, p. 7194-7203, Feb. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf302009w>.