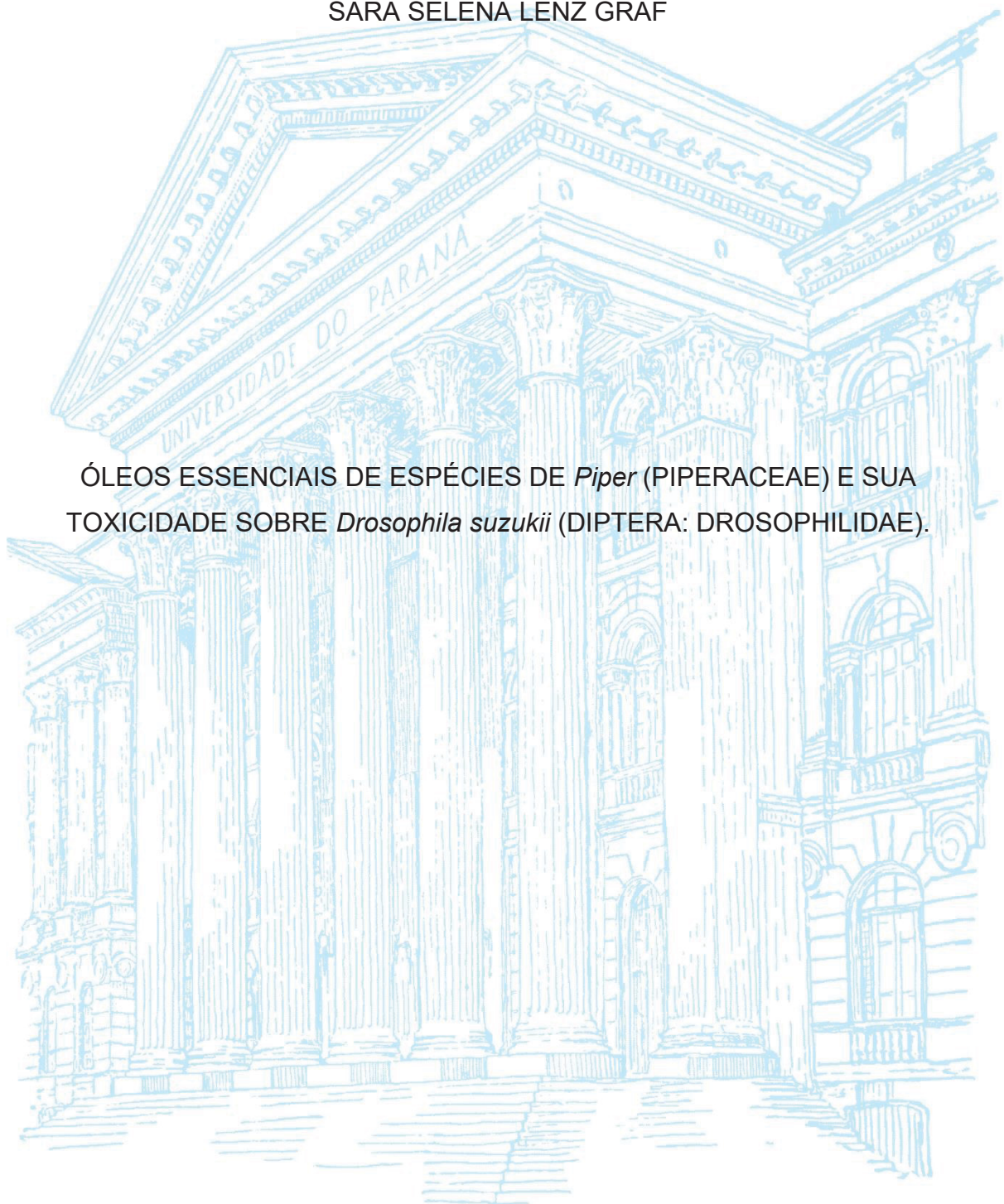


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SARA SELENA LENZ GRAF

ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DE *Piper* (PIPERACEAE) E SUA
TOXICIDADE SOBRE *Drosophila suzukii* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE).



CURITIBA

2024

SARA SELENA LENZ GRAF

ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DE *Piper* (PIPERACEAE) E SUA
TOXICIDADE SOBRE *Drosophila suzukii* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências e Exatas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestranda em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Beatriz Helena Lameiro Noronha Sales Maia

CURITIBA

2024

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Graf, Sara Selenia Lenz

Óleos essenciais de espécies de *Piper* (piperaceae) e sua toxicidade sobre *Drosophila suzukii* (diptera: drosophilidae. / Sara Selenia Lenz Graf. – Curitiba, 2024.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Beatriz Helena Lameiro Noronha Sales Maia

1. Essências e Óleos essenciais. 2. Inseticidas. I. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Química. II. Maia, Beatriz Helena Lameiro Noronha Sales. III. Título.

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -
40001016026P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **SARA SELENA LENZ GRAF** intitulada: **ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DE *Piper* (PIPERACEAE) E SUA TOXICIDADE SOBRE *Drosophila suzukii* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE).**, sob orientação da Profa. Dra. BEATRIZ HELENA LAMEIRO DE NORONHA SALES MAIA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 27 de Fevereiro de 2024.

Assinatura Eletrônica

04/03/2024 10:25:04.0

BEATRIZ HELENA LAMEIRO DE NORONHA SALES MAIA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

04/03/2024 17:28:00.0

SIRLEI DIAS TEIXEIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ - CAMPUS PATO BRANCO)

Assinatura Eletrônica

04/03/2024 20:42:35.0

BRÁS HELENO DE OLIVEIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais: Mariângela Lenz Graf e Egerhardt Graf, pelo apoio e amor incondicional ao longo dos anos, pelo incentivo e por sempre querer o melhor para mim.

Às minhas irmãs: Larissa Helena Lenz Graf e Anna Carolina Lenz Graf, por sempre me apoiar e me aceitar; e aos meus sobrinhos Felipe Graf Tezza e Alice Maria Graf de Souza por me trazer boas risadas.

A professora Dra. Beatriz Helena Lameiro de Noronha Sales Maia, pela orientação, ensinamentos e compreensão ao longo desse projeto.

Ao professor Dr. Diones Krinski da UNEMAT, pela coleta do material vegetal.

Ao professor Dr. Cícero Deschamps, por conceder o Laboratório de Ecofisiologia da UFPR para a extração dos óleos essenciais.

Ao técnico de Laboratório Dr. Roger Raupp Cipriano pela ajuda e paciência com as extrações dos óleos.

A Dr. Michele Trombin de Souza e Dr. Mireli Trombin de Souza, pelos ensinamentos, pela criação de *Drosophila suzukii* e ajuda nos testes biológicos.

A professora Dra. Maria Aparecida Cassilha Zawadneak, com todo suporte e estrutura para a realização dos testes no Laboratório de Entomologia Agrícola – Prof Angelo Moreira da Costa Lima.

Ao professor Dr. Frederico Luis Felipe Soares pela paciência e ensinamentos e colaboração com a parte estatística (Análise de Componentes Principais).

A mestrande Maria Eduarda Panza Maia pela colaboração e ajuda com as Análises de Componentes Principais (ACP).

Aos professores: Dr. Kahlil Schwanka Salome e Dr. Frederico Luis Felipe Soares, pela disponibilidade e pela contribuição neste trabalho realizadas através da banca do Exame de Qualificação, buscando a melhoria deste.

Aos professores membros da banca Dr. Brás Heleno de Oliveira e Dra. Sirlei Dias Teixeira, pela disponibilidade em contribuir com este trabalho.

Aos técnicos que me ajudaram ao longo da pesquisa com o manuseio de equipamentos (CG-EM), em especial ao Thiago José dos Santos.

Aos meus amigos do Laboratório de Produtos Naturais e Ecologia Química: Carolina Azevedo de Macedo, Elaine Fernanda dos Santos, Inaiara Casapula, Rafael Sari e Rebeca Gabriel de Camargo.

Aos meus amigos de longa data, em especial: Alysson Martins, Heloisa Comelli e Natália Sutério, obrigada por todas as lições, por sempre me apoiarem e estarem ao meu lado.

A todos os professores, da UFSC e UFPR, que contribuíram no aumento do meu conhecimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, por conceder uma bolsa de mestrado. E ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade e infraestrutura para a realização desta pesquisa.

Agradeço a todos também que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, obrigada!

RESUMO

A procura por alternativas que possam substituir produtos sintéticos no controle de pragas vem crescendo mundialmente. Visto que produtos sintéticos causam malefícios tanto para o meio ambiente quanto para os seres humanos. Por essa razão, produtos naturais têm sido estudados para uso como bioinseticidas. Espécies como frutas vermelhas (mirtilo, morango, framboesa e amora) e frutas de tegumento frágil (como uva e pera) são atacadas por diversas pragas em todos os seus estágios de cultivo. Uma praga que vem preocupando agricultores é a *Drosophila suzukii*, que diferente de outras espécies, coloca seus ovos em frutos sadios, acelerando seu processo de maturação como também possibilita a entrada de patógenos, causando grande perda econômica. Estudos com óleos essenciais de *Piper* têm demonstrado que possuem propriedades inseticidas, tendo potencial como uma alternativa contra essa espécie de praga. Neste trabalho foi explorado a composição química dos óleos essenciais de 6 espécies de *Piper*, sendo *Piper arboreum*, *Piper* aff. *divaricatum*, *Piper fuligineum*, *Piper hispidum*, *Piper mikanianum* e *Piper rivinoides*, e a realização de teste tópico e de oviposição com a *D. suzukii*. Como resultados foram observados, para o teste tópico, que *P. rivinoides* apresentou maior taxa de mortalidade em todas as concentrações, com taxa de 100,00% de mortalidade para a concentração máxima (2,00%), e *P. mikanianum* apresentou taxa de 95,00% na concentração máxima. Já para o teste de oviposição *P. mikanianum* apresentou melhor resultado (0,00 ovos/fruto), seguido da *P. rivinoides* (0,03 ovos/fruto). Esses resultados demonstram o potencial destes OEs como promissores bioinseticidas. Avaliou-se também a sazonalidade dos óleos essenciais, pela Análise de Componentes Principais (ACP, do inglês Principal Compounds Analysis – PCA) de 5 espécies de *Piper*, sendo *P. arboreum*, *P. aff. divaricatum*, *P. fuligineum*, *P. hispidum* e *P. tuberculatum*.

Palavras-chave: Óleos essenciais. *Piper*. *Drosophila suzukii*. Propriedade inseticida.

ABSTRACT

The search for alternatives that can replace synthetic products in pest control is growing worldwide. Since synthetic products can cause harm to both the environment and humans. For this reason, natural products have been studied for use as bioinsecticides. Species such as red fruits (blueberries, strawberries, raspberries and blackberries) and fruits with fragile teguments (such as grapes and pears) are attacked by various pests at all stages of cultivation. A pest that has been worrying farmers is *Drosophila suzukii*, which, unlike other species, lays its eggs in healthy fruits, accelerating their maturation process and also allowing the entry of pathogens, causing great economic loss. Studies with *Piper* essential oils have shown that they have insecticidal properties, having the potential to be an alternative against this kind of pest. In the work studied, the chemical composition of essential oils from 6 species of *Piper* was explored, including *Piper arboreum*, *Piper* aff. *divaricatum*, *Piper fuliginum*, *Piper hispidum*, *Piper mikanianum* and *Piper rivinoides*, to carry out topical and oviposition tests with *D. suzukii*. As results were observed, for the topical test, that *P. rivinoides* presented a higher mortality rate at all concentrations, with a 100.00% mortality rate for the maximum concentration (2.00%), and *P. mikanianum* presented a higher mortality rate of 95.00% at maximum concentration. For the oviposition test, *P. mikanianum* showed the best result (0.00 eggs/fruit), followed by *P. rivinoides* (0.03 eggs/fruit). These results demonstrate the potential of these EOs as promising bioinsecticides. The seasonality of essential oils was also evaluated using Principal Component Analysis (PCA) of 5 species of *Piper*, including *P. arboreum*, *P. aff. divaricatum*, *P. fuliginum*, *P. hispidum* and *P. tuberculatum*.

Key-words: Essential Oils. *Piper*. *Drosophila suzukii*. Insecticidal property.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Exemplos de Terpenos, Terpenoides e Arilpropanoides.	19
FIGURA 2 - Biossíntese dos Terpenos.	20
FIGURA 3 - Imagem da <i>Drosophila suzukii</i> . à direita é a Fêmea, e à esquerda o Macho Apresentando uma Mancha na Asa.	23
FIGURA 4 - Ciclo Biológico da <i>Drosophila suzukii</i>	24
FIGURA 5 - Cromatograma da <i>Piper arboreum</i> no Mês de Dezembro (Estação Chuvosa).	32
FIGURA 6 - Gráfico das Classes de Compostos do Óleo de <i>Piper arboreum</i>	39
FIGURA 7 - Gráfico de Scores dos Óleos Essenciais de <i>Piper arboreum</i>	41
FIGURA 8 - Gráfico de Loadings Correspondente à Sazonalidade dos Óleos Essenciais de <i>Piper arboreum</i>	41
FIGURA 9 - Cromatograma da <i>Piper aff. divaricatum</i> no Mês de Dezembro (Estação Chuvosa).	42
FIGURA 10 - Gráfico das Classes de Compostos do Óleo de <i>Piper aff. divaricatum</i>	47
FIGURA 11 - Gráfico de Scores dos Óleos Essenciais de <i>Piper aff. divaricatum</i>	48
FIGURA 12 - Gráfico de Loadings Correspondente à Sazonalidade dos Óleos Essenciais de <i>Piper aff. divaricatum</i>	49
FIGURA 13 - Cromatograma da <i>Piper fuligineum</i> no Mês de Dezembro (Estação Chuvosa).	50
FIGURA 14 - Gráfico das Classes de Compostos do Óleo de <i>Piper fuligineum</i> . ..	55
FIGURA 15 - Gráfico de Scores dos Óleos Essenciais de <i>Piper fuligineum</i>	57
FIGURA 16 - Gráfico de Loadings Correspondente à Sazonalidade dos Óleos Essenciais de <i>Piper fuligineum</i>	57
FIGURA 17 - Cromatograma da <i>Piper hispidum</i> no Mês de Dezembro (estação chuvosa).	58
FIGURA 18 - Gráfico das Classes de Compostos do Óleo Essencial de <i>Piper hispidum</i>	63
FIGURA 19 - Gráfico de Scores dos Óleos Essenciais de <i>Piper hispidum</i>	64
FIGURA 20 - Gráfico de Loadings Correspondente à Sazonalidade dos Óleos Essenciais de <i>Piper hispidum</i>	65

FIGURA 21 - Cromatograma da <i>Piper tuberculatum</i> no Mês de Dezembro (Estação Chuvosa).....	65
FIGURA 22 - Gráfico das Classes de Compostos do Óleo Essencial de <i>Piper tuberculatum</i>	69
FIGURA 23 - Gráfico de Scores dos Óleos Essenciais de <i>Piper tuberculatum</i>	70
FIGURA 24 - Gráfico de Loadings Correspondente à Sazonalidade dos Óleos Essenciais de <i>Piper tuberculatum</i>	71
FIGURA 25 - Compostos Majoritários dos Óleos Essenciais (<i>pools</i>) das Seis Espécies de <i>Piper</i>	73
FIGURA 26 - Gráfico de Comparação entre as Classes de Compostos dos Óleos Essenciais de Seis Espécies de <i>Piper</i>	79
FIGURA 27 - Frutos Artificiais para o Teste de Oviposição Contra <i>Drosophila suzukii</i>	80
FIGURA 28 - Gráfico do Número de Ovos de <i>Drosophila suzukii</i> Após o Teste de Oviposição.	81
FIGURA 29 - Imagem do Ovo de <i>Drosophila Suzukii</i> . à Esquerda (a) a Imagem em 3.2x aumentada, à Direita (b) a Imagem em 5.0x aumentada no Microscópio.	81
FIGURA 30 - Gráfico de Média de Mortalidade de <i>Drosophila suzukii</i> Após 24h..	83

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Rendimentos dos Óleos Essenciais (%) das Espécies <i>Piper arboreum</i> , <i>Piper</i> aff. <i>divaricatum</i> , <i>Piper fuligineum</i> , <i>Piper hispidum</i> e <i>Piper tuberculatum</i>	30
TABELA 2 - Precipitação Total e Temperatura Mensal em Tangará da Serra.....	32
TABELA 3 - Composição do Óleo Essencial de <i>Piper arboreum</i> nos 4 Meses Analisados.	36
TABELA 4 - Composição do Óleo Essencial de <i>Piper</i> aff. <i>divaricatum</i> nos 4 Meses Analisados.	44
TABELA 5 - Composição do Óleo Essencial de <i>Piper fuligineum</i> nos 4 Meses Analisados.	52
TABELA 6 - Composição do Óleo Essencial de <i>Piper hispidum</i> nos 4 Meses Analisados.	60
TABELA 7 - Composição do Óleo Essencial de <i>Piper tuberculatum</i> nos 4 Meses Analisados.	67
TABELA 8 - Composição dos Óleos Essenciais (<i>pool</i>) de Seis Espécies de <i>Piper</i>	74

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Compostos Majoritários Presentes nas Cinco Espécies de *Piper*...34

LISTA DE SIGLAS

CG-EM	-	Cromatografia em fase Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
cm	-	Centímetro
CVMP	-	Committee for Veterinary Medicinal Products
DMSO	-	Dimetil sulfóxido
DP	-	Desvio Padrão
<i>D.</i>	-	<i>Drosophila</i>
eV	-	Elétron Volts
HPLC	-	High Performance Liquid Chromatography
IA	-	Índice Aritmético
INMET	-	Instituto Nacional de Metereologia
min.	-	Minuto
mL	-	Mililitro
NIST	-	National Institute of Advanced Science and Tecnology
OE	-	Óleo Essencial
OE _s	-	Óleos Essenciais
PCA	-	Método estatístico de Análise de Componentes Principais
<i>P.</i>	-	<i>Piper</i>
UR	-	Umidade Relativa
μg	-	Micrograma
μL	-	Microlitro
μm	-	Micrômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	ÓLEOS ESSENCIAIS	16
1.2	TERPENOS	18
1.3	FAMÍLIA PIPERACEAE	21
1.4	<i>Drosophila suzukii</i>	22
2	OBJETIVOS.....	25
2.1	OBJETIVOS GERAIS.....	25
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1	COLETA E SECAGEM DO MATERIAL VEGETAL	25
3.2	SOLVENTES E REAGENTES	26
3.3	EXTRAÇÃO E ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	26
3.4	CRIAÇÃO DA <i>Drosophila suzukii</i>	27
3.5	PREPARAÇÃO DO <i>POOL</i>	28
3.6	BIOENSAIOS.....	28
3.6.1	Oviposição	28
3.6.2	Aplicação Tópica.....	29
3.7	ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS.....	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	RENDIMENTO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	30
4.2	ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Piper arboreum</i>	32
4.2.1	Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade nos óleos essenciais de <i>Piper arboreum</i>	40
4.3	ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Piper</i> aff. <i>divaricatum</i>	42
4.3.1	Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade na óleos essenciais de <i>Piper</i> aff. <i>divaricatum</i>	48
4.4	ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Piper fuligineum</i>	49

4.4.1	Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade nos óleos essenciais de <i>Piper fuliginum</i>	56
4.5	ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Piper hispidum</i>	58
4.5.1	Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade nos óleos essenciais de <i>Piper hispidum</i>	63
4.6	ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Piper tuberculatum</i>	65
4.6.1	Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade nos óleos essenciais de <i>Piper tuberculatum</i>	69
4.7	ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PARA TESTE COM <i>Drosophila suzukii</i>	71
4.8	TESTE DE OVIPOSIÇÃO COM <i>Drosophila suzukii</i>	79
4.9	TESTE TÓPICO COM <i>Drosophila suzukii</i>	82
5	CONCLUSÃO	84
	REFERÊNCIAS	85

1 INTRODUÇÃO

Desde a Antiguidade, os seres humanos utilizam produtos naturais, plantas, microrganismos e organismos marinhos, para tratamento de doenças. De acordo com registros de fósseis, os humanos usam plantas como medicamentos desde pelo menos 60 mil anos (SOLECKI, 1975), descobertas, algumas por acaso, que posteriormente foram corroboradas pela ciência. Utilizam as plantas também em outras funcionalidades, como na fabricação de cosméticos, produtos de higiene e limpeza, indústria alimentícia, e na contenção de pragas (CHEMAT et al., 2019).

Os produtos naturais são moléculas de variadas massas moleculares produzidas por uma fonte biológica que se desenvolveram ao longo dos anos, levando a uma diversidade química que resulta em inúmeras atividades biológicas (YUAN et al., 2016).

A demanda por produtos naturais é crescente, considerando o número de espécies de plantas no mundo, e as diferentes rotas biossintéticas capazes de produzir compostos químicos de alta diversidade. O Brasil é o país com a maior biodiversidade do mundo e possui 6 biomas terrestres diferenciados (Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal), indicando grande potencial a ser explorado nesta área (VALLI et al., 2018). Além de que, pesquisadores estão em busca de alternativas que possibilitam substituir os produtos sintéticos que podem causar muitos malefícios para o meio ambiente e para os seres humanos (MACHADO et al., 2011).

O estudo das plantas se concentra na análise de substâncias químicas e tem como objetivo a extração, purificação, isolamento e elucidação estrutural. A pesquisa fitoquímica é importante pelo estudo detalhado dos metabólitos secundários presentes nas plantas, suas propriedades, estruturas químicas e potenciais atividades biológicas, além de melhorar técnicas de plantio levando ao aumento na produção e na procura por plantas medicinais e óleos essenciais (MACHADO et al., 2011; VALLI et al., 2013).

1.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

O termo óleo essencial (OE), usado pela primeira vez no século XVI, deriva da palavra *Quinta Essentia* (quintessência), nome concedido pelo médico suíço

Theophrastus von Hohenheim. Naquela época, von Hohenheim acreditava que os óleos essenciais eram a forma mais concentrada e pura do princípio medicinal de qualquer planta. Nos dias de hoje, o termo óleo essencial é usado para descrever uma mistura de compostos de baixo peso molecular que são extraídos de plantas, por técnicas convencionais como a extração com solventes (extração líquido-líquido), fluídos supercríticos, hidrodestilação e por arraste à vapor. O método de hidrodestilação é a técnica mais utilizada, em laboratório, (BASER et al., 2007; BAKKALI et al., 2008; HYLDGAARD et al., 2012), por ser viável economicamente e eficiente na obtenção de óleo essencial (NASARDIN et al., 2018).

Também conhecido como óleo volátil ou óleo etéreo, são metabólitos secundários, voláteis, altamente concentrados e podem ser biossintetizados em todos os órgãos da planta, como raízes, folhas, flores, frutos, madeira e casca. Possuem um odor intenso, frequentemente apresentam menor densidade que a água, são solúveis em solventes orgânicos (como hexano, acetona e DMSO), e correspondem por volta de 1% da massa da planta úmida. São importantes para o sistema de defesa da espécie vegetal, para atrair insetos que irão ajudar na dispersão de sementes e, facilitar o processo de polinização e também proteger as plantas contra predadores (BAKKALI et al., 2008; BUTNARIU et al., 2018; SHAHID UD-PAULA et al., 2019).

Os componentes dos óleos voláteis são geralmente uma mistura de hidrocarbonetos mono e sesquiterpênicos (oxigenados ou não) e de outros grupos como álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, éteres e fenóis além dos arilpropanoides. Em razão dessa rica composição química pode apresentar diferentes propriedades biológicas como atividade antibacteriana, antifúngica, inseticida, anti-inflamatória, antisséptica, além de possuírem propriedades antioxidantes, repelentes e outras (PELISSARI et al., 2010; ABDULLAH et al., 2020).

O rendimento e a composição química podem variar por inúmeras razões, sendo os fatores que influenciam: bióticos (estágio de desenvolvimento dos órgãos e dos tecidos), abióticos (qualidade luminosa disponível, umidade relativa, temperatura, precipitações, disponibilidade de água e nutrientes, poluição, danos físicos, e variações sazonais), bioquímicos e/ou genéticos (mudanças genéticas e reações enzimáticas), além de ações resultantes da intervenção humana (coleta e método de extração) (LOAIZA et al., 2007; FIGUEIREDO et al., 2008; ABBAS et al., 2017).

O mercado de óleos essenciais é bem-sucedido para países que abrangem uma vasta riqueza de plantas, como o Brasil, e possui capacidade de transformar as matérias-primas em produtos beneficiados. Algumas famílias botânicas são conhecidas por conter espécies que são ricas em óleos essenciais, como Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Myrtaceae e Piperaceae. Destas, representantes da família Piperaceae, incluindo o gênero *Piper*, vem chamando atenção devido suas propriedades inseticidas atribuídas a presença de terpeno e arilpropanoide (BASER et al., 2007; KRINSKI et al., 2018).

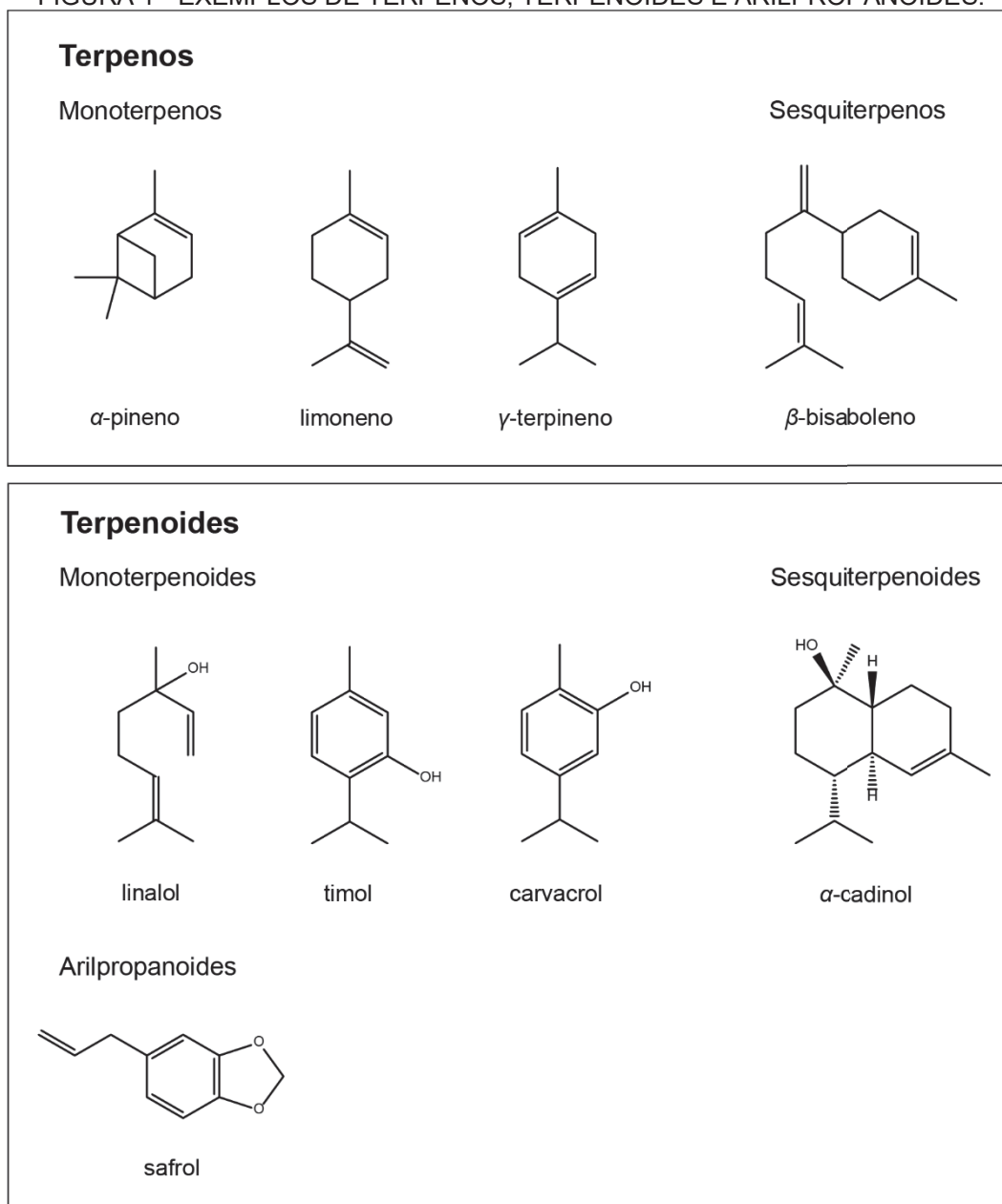
Atualmente, há mais de 3000 óleos essenciais caracterizados quimicamente, dos quais cerca de 300 são importantes comercialmente, especialmente para as indústrias farmacêuticas, alimentícia, sanitária, cosmética e de perfumaria (SHAHID UD-PAULA et al., 2019).

1.2 TERPENOS

Terpenos pertencem ao maior grupo de produtos naturais, abrangendo pelo menos 30 mil compostos conhecidos. São hidrocarbonetos produzidos pela união de unidades de 5 átomos de carbono formando, por exemplo; hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}) e triterpenos (C_{30}). Monoterpenos e sesquiterpenos são as classes mais comumente encontradas nos óleos essenciais (FIGURA 1). Terpenos que contêm átomos de oxigênio são formados, via oxidações, através de reações enzimáticas e são chamados de terpenoides (DEWICK, 2001; BASER et al., 2007; BAKKALI et al., 2008).

Os terpenos e terpenoides normalmente apresentam um papel fundamental nas plantas, como função biológica de defesa: para a proteção contra herbívoros e patógenos; e função de atração: para atrair polinizadores como abelhas e borboletas (ASHOUR et al., 2018).

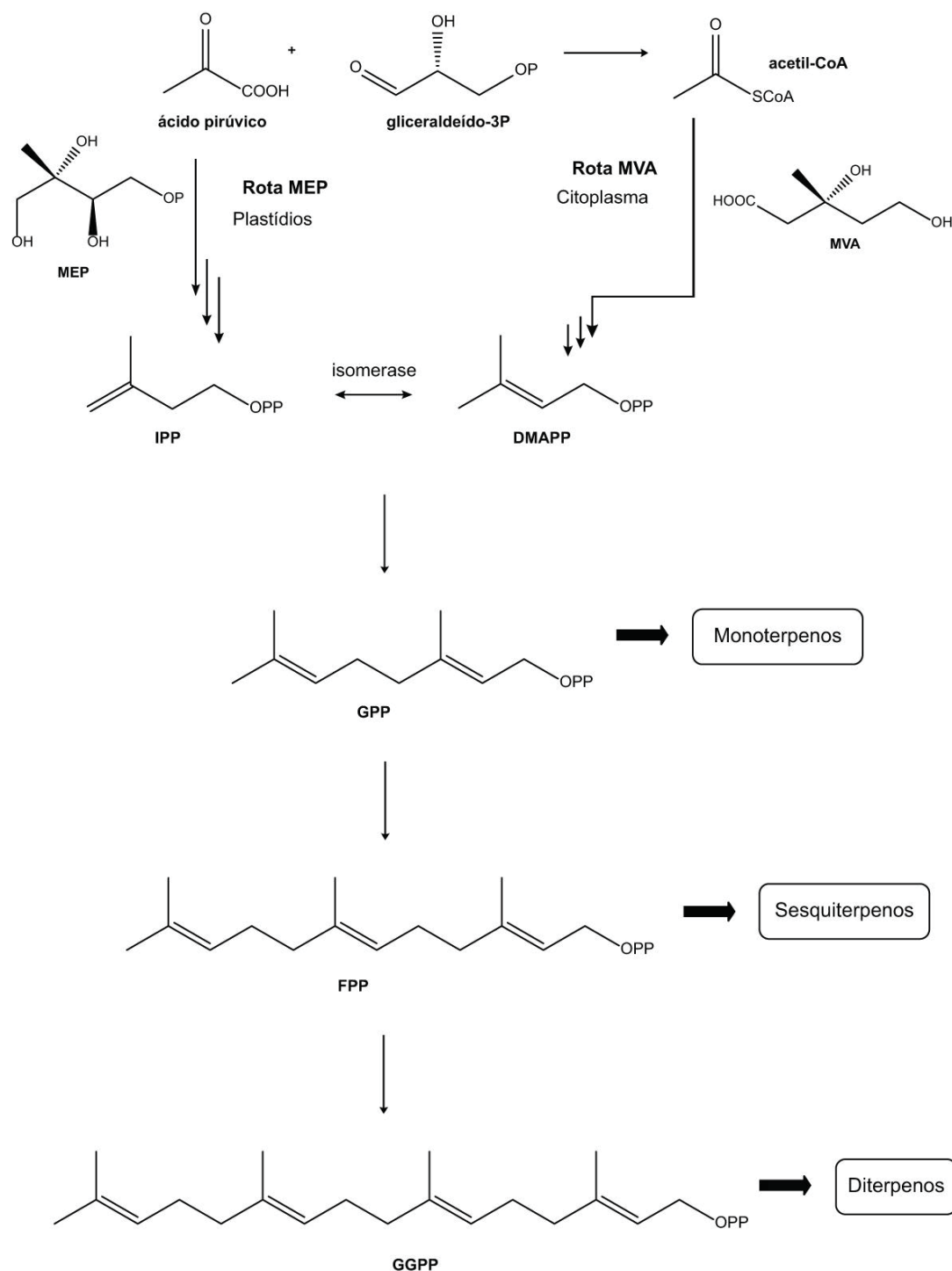
FIGURA 1 - EXEMPLOS DE TERPENOS, TERPENOIDES E ARILPROPANOIDES.



FONTE: ADAMS, 2017.

A biossíntese dos terpenos (FIGURA 2) ocorre por dois caminhos: o caminho do mevalonato (MVA) no citosol ou matriz citoplasmática das células, e o caminho do metil eritritol (MEP) nos plastídios das células. Os precursores formados nestas vias são: o difosfato de isopentenila (IPP) e o difosfato de dimetilalila (DMAPP), que ao reagirem via condensação resultam no difosfato de geranila (GPP), precursor dos monoterpenos. A condensação do IPP com o GPP resulta no difosfato de farnesila (FPP), que é o precursor dos sesquiterpenos (DEWICK, 2001; BASER et al., 2007; ASHOUR et al., 2018).

FIGURA 2 - BIODISSÍNTESE DOS TERPENOS.



FONTE: Adaptado de PINTO-ZEVALLOS et al., 2013.

MEP – fosfato de metil eritritol; MVA – ácido mevalônico; IPP – difosfato de isopentenila; DMAPP – difosfato de dimetilalila; GPP – difosfato de geranila; FPP – difosfato de farnesila; GGPP – difosfato de geranil geranila.

Em geral, a regulação biossintética dos componentes do óleo volátil é definida por expressão gênica, onde a informação contida no DNA da planta é transcrita em RNA, que por sua vez é traduzida em proteínas (TORRES et al.,

2021), porém, sabe-se que a composição do OE pode experimentar variações resultantes da influência dos fatores intrínsecos (fatores bioquímicos e/ou genéticos) e extrínsecos (fatores bióticos, abióticos e de ações antrópicas) (BOUYAHYA et al., 2017).

Essa classe de compostos recebe cada vez mais atenção por apresentar ampla gama de aplicações, desde na medicina até nas indústrias alimentícias e de cosméticos (DEWICK, 2001; ASHOUR et al., 2018).

1.3 FAMÍLIA PIPERACEAE

A família Piperaceae abrange 5 gêneros, dos quais o mais abundante, é o gênero *Piper* com mais de 2500 espécies espalhadas globalmente (MORAES et al., 2014; DURANT-ARCHIBOLD et al., 2018). Dessas, 700 espécies estão distribuídas em regiões tropicais e temperadas. Somente no Brasil, são encontradas cerca de 477 espécies, especialmente na região da Floresta Amazônica onde localiza-se em abundância e grande diversidade (GUIMARÃES et al., 2024).

As Piperaceae têm relevância nas áreas comercial, econômica e medicinal. Economicamente a mais importante é a *Piper nigrum* L. (pimenta preta), comercializada mundialmente como condimento em mercados de especiarias (PARMAR et al., 1997), sendo o condimento mais antigo utilizado no mundo para a preservação de alimentos. No Brasil foi introduzida pelos japoneses no século passado, demonstrando uma grande adaptação climática, levando o país para o primeiro lugar na produção dessa especiaria (SILVA et al., 2014; TAKOOREE et al., 2019).

A *Piper arboreum*, conhecida comumente como pau-de-angola ou jaborandi, apresenta arbustos que crescem de 2 a 4 metros de altura (GUIMARAES et al., 2006), e é amplamente utilizada na medicina popular brasileira na forma de chá para o tratamento de bronquites, gripes e reumatismo. Estudos fitoquímicos da planta apresentam sesquiterpenos como constituintes majoritários (NASCIMENTO et al., 2015).

A *Piper hispidum*, é uma espécie amplamente distribuída, podendo ser localizada na América Central, nos Andes e América do Sul. Conhecida

popularmente como matico ou aperta-joão, é reportada por sua atividade antisséptica e para o tratamento de úlceras na pele (ASSIS et al., 2013).

Na área medicinal, os óleos essenciais de Piperaceae apresentam muitos efeitos biológicos, como analgésico, anti-inflamatórios e propriedades antioxidantes, em razão da presença de terpenoides e arilpropanoides. A atividade antioxidante é de grande importância na área de cosméticos, para inibir e retardar ações de possíveis radicais livres que danificam as células e causam o envelhecimento (KATO et al., 2007; SILVA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2019).

Os óleos essenciais de *Piper* spp. apresentam cada vez mais importância, em razão da sua composição química e pelas características de possuírem diferentes modo e locais de ação em insetos, possuindo menor desenvolvimento de resistência quando comparado a inseticidas convencionais e por apresentarem baixo período residual devido a sua alta volatilidade (ISMAN et al., 2020). Foi relatado que terpenoides e arilpropanoides, como linalol e safrol, respectivamente, são responsáveis pela maior atividade inseticida e de repelência a diferentes espécies de insetos (SOUTO et al., 2012).

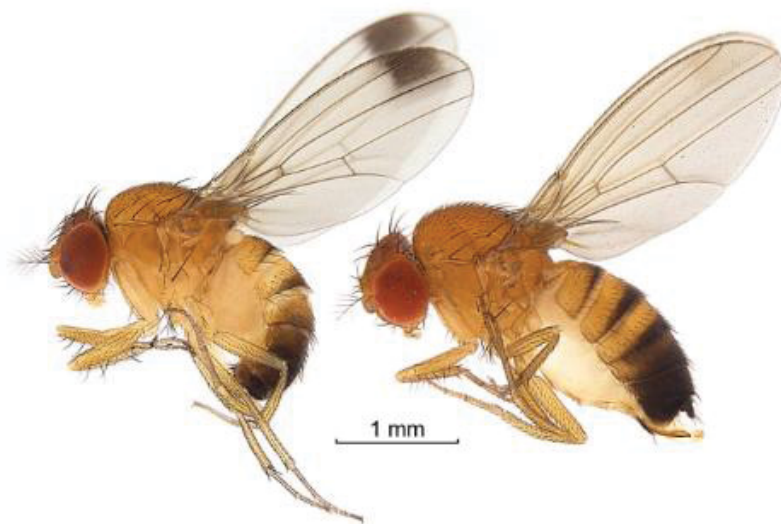
1.4 *Drosophila suzukii*

A família Drosophilidae é composta por mais de 4 mil espécies espalhadas globalmente, sendo aproximadamente 1.200 espécies pertencentes ao gênero *Drosophila*, e as mais conhecidas são: *Drosophila suzukii*, *Drosophila pulchrella*, *Drosophila subpulchrella* (BENITO et al., 2016; LAVAGNINO et al., 2018). A *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) é um inseto invasor que vem chamando a atenção dos fruticultores, em razão de ser responsável por atacar mais de 60 tipos de plantações (MORGAN, 2009; BERNARDI et al., 2016).

Algumas espécies dessa família são capazes de provocar danos em frutos sadios, como é o caso da *D. suzukii*, também conhecida como mosca-da-cereja ou drosófila-da-asa-manchada (FIGURA 3) (DEPRÁ et al., 2014). Os danos na colheita são provocados pela fêmea da *D. suzukii* que apresenta um ovipositor serrilhado utilizado para a inserção de ovos dentro da fruta. Esses ovos se alimentam da polpa das frutas, acelerando o processo de amadurecimento e a queda do fruto. Em consequência da oviposição, é favorecido infecções por

patógenos (bactérias e fungos) e infestação por outros drosofilídeos (BERNARDI et al., 2016).

FIGURA 3 - IMAGEM DA *Drosophila suzukii*. À DIREITA É A FÊMEA, E À ESQUERDA O MACHO APRESENTANDO UMA MANCHA NA ASA.



FONTE: SPEARS et al., 2017.

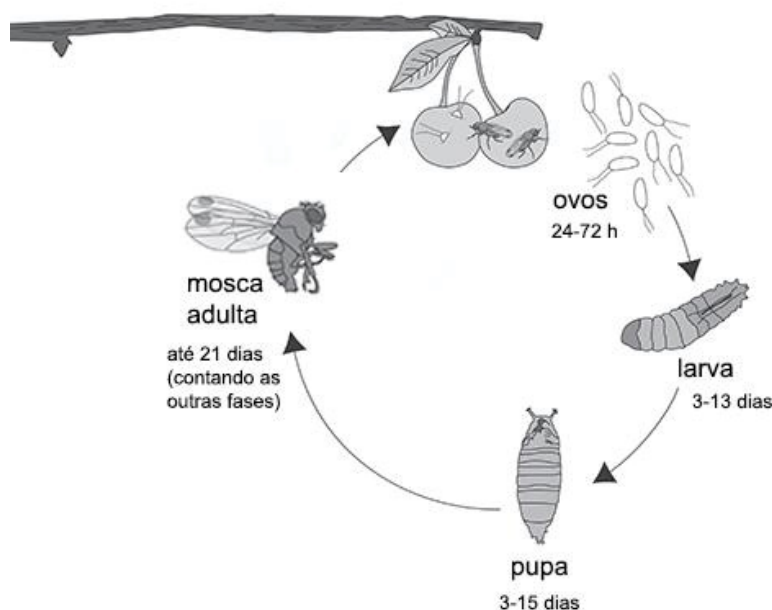
Seu primeiro registro foi em 1918 no Japão, porém somente em 1931, por Matsumura, descreveu toda sua morfologia e estágios de desenvolvimento. A *D. suzukii* é considerada endêmica em inúmeros países asiáticos como China, Coreia do Norte, Coreia do Sul, Taiwan, Paquistão, Mianmar, Rússia, Índia, Tailândia e outros. Na década de 80 houve seu primeiro registro fora da Ásia, em Oahu no Havaí (CALABRIA et al., 2010; HAUSER, 2011; EMILJANOWICZ et al., 2014). De acordo com Deprá et al. (2014) a primeira notícia desse novo invasor no Brasil foi na Reserva Biológica Estadual de Aguaf, Nova Veneza, estado de Santa Catarina, e no estado do Rio Grande do Sul no ano de 2013 (VILELA et al., 2014).

O potencial de propagação da *D. suzukii* no Brasil é muito expressivo, visto que mais de 80% dos locais das plantações, que servem como hospedeiros, estão localizadas em climas demasiadamente favoráveis para a fêmea colocar seus ovos (BENITO et al., 2016). *Drosophila suzukii* usa como hospedeiro frutos da categoria de pequenas frutas (amoras, cerejas, framboesas, mirtilos e morangos), e outras de tegumento frágil como pêssegos, uvas de mesa e para vinho, e peras (VILELA et al., 2014).

Os ovos depositados pelas fêmeas na superfície dos frutos se desenvolvem em larvas que se nutrem da polpa da fruta, estragando-as. As lesões causadas pela

oviposição ou por lesões externas, permitem que patógenos, como leveduras e bactérias, penetrem os frutos, acarretando prejuízo financeiro, visto que as fêmeas preferem frutos saudáveis e maduros (BERNARDI et al., 2016; LAVAGNINO et al., 2018; SOUZA et al., 2021).

FIGURA 4 - CICLO BIOLÓGICO DA *Drosophila suzukii*.



FONTE: Adaptado de SPEARS et al., 2017.

Devido ao ciclo biológico curto (cerca de 21 dias, desde a fase do ovo até a fase adulta) (FIGURA 4) (SPITALER et al., 2020), fácil adaptação ambiental (SÁNCHEZ-RAMOS et al., 2019) e rápido crescimento populacional, aplicações frequentes de inseticidas são utilizadas para controlar as moscas adultas (BERNARDI et al., 2016; SOUZA et al., 2021). No entanto 92% da população de *D. suzukii* pode existir como ovos, larvas ou pupas em qualquer momento (EMILJANOWICZ et al., 2014). O uso incontrolado de inseticidas pode resultar até na letalidade de insetos que não são alvos (pragas), como os inimigos naturais. Os efeitos causados por agroquímicos podem modificar propriedades biológicas dos insetos, como capacidade reprodutiva (SILVEIRA et al., 2003).

O programa de manejo integrado de pragas pode ser melhorado usando outras táticas de controle destinadas a estágios imaturos. As estratégias utilizadas devem funcionar em sinergia; assim, a adoção de óleos essenciais não pode reduzir a eficácia do controle biológico (inimigos naturais). Neste sentido, o controle racional de insetos-praga por meio de inimigos naturais aliado à utilização de

bioinseticidas se revelam capazes de regular as pragas em seu ambiente natural, reduzindo a densidade das populações e, conseqüentemente, os danos às plantas hospedeiras (FRITZ et al., 2008).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Este projeto tem como objetivo estudar óleos essenciais de espécies de *Piper*, avaliando o efeito da sazonalidade na composição química dos óleos essenciais das espécies *P. arboreum*, *P. aff. divaricatum*, *P. fuligineum*, *P. hispidum* e *P. tuberculatum*, além da utilização dos óleos essenciais de *P. arboreum*, *P. aff. divaricatum*, *P. fuligineum*, *P. hispidum*, *P. mikanianum* e *P. rivinoides* no controle da praga *D. suzukii*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar espécies de *Piper* num período de 2 anos, sendo de dez/20 até nov/21 para fazer o *pool* para os testes biológicos, e de dez/21 até set/22 para o estudo da sazonalidade;
- Extrair óleos essenciais de espécies de *Piper* através da hidrodestilação;
- Caracterizar os óleos essenciais através da cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM);
- Avaliar o potencial inseticida dos óleos essenciais das espécies de *Piper* para o controle da *D. suzukii*, através dos testes de oviposição e tópico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA E SECAGEM DO MATERIAL VEGETAL

As folhas dos materiais botânicos das espécies de *Piper* (*P. arboreum*, *P. aff. divaricatum*, *P. fuligineum*, *P. hispidum* e *P. tuberculatum*) pré-selecionadas em pesquisas (KRINSKI et al., 2018; SOUZA et al., 2020) foram coletadas em uma área de vegetação nativa, situada em um remanescente florestal em Tangará da

Serra - MT (14°41'46.3" S; 57°47'50.0" W, 207 m). As folhas das espécies *P. mikanianum* (25°23'19.94" S, 48°33'21.7" W, 908 m) e *P. rivinoides* (25°24'25.41" S, 48°64'48.55" W) foram coletadas em Curitiba – PR e Antonina – PR respectivamente. Após a coleta, as folhas, de cada espécie, foram homogeneizadas separadamente e acondicionadas em sacos de papel Kraft para a secagem do material. Posteriormente, as folhas foram secas em estufa de ar circulante a 40 °C durante 96 h, em seguida, trituradas em moinho de facas. Esta etapa conta com a colaboração do Prof. Dr. Diones Krinski – UNEMAT.

3.2 SOLVENTES E REAGENTES

Foi utilizado o hexano grau HPLC (Tedia) para análise no CG-EM. O padrão de *n*-alcanos utilizado nas análises foi o C8-C35 (Supelco – 1000 µg mL⁻¹). E para os testes de oviposição feitos em *D. suzukii* foi utilizado acetona 99,0% (Dipa). O ácido propiônico 99,5% (Sigma-Aldrich) foi empregado como conservante na dieta artificial da *D. suzukii*.

3.3 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

As folhas secas e trituradas das espécies de *Piper* spp. escolhidas para este estudo, foram submetidas à hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado, durante 4 h. Em cada extração do óleo, realizada em triplicata, 100,0 g das folhas foram colocadas em um balão de 2,0 L contendo 1,0 L de água destilada. Após a realização da extração, o óleo essencial foi coletado, feito o cálculo do rendimento, e armazenado em freezer até a análise.

A análise química dos óleos essenciais foi realizada pela técnica de CG-EM. Para isto, a amostra foi diluída a 0,1% (m/v) em hexano grau HPLC e analisada nas seguintes condições: coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (5% difenil + 95% dimetil polissiloxano), com 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. Como gás de arraste empregado foi hélio com vazão de 1,02 mL min⁻¹, em modo split 1:90, a temperatura do injetor à 250 °C e o sistema de ionização 70 eV. Foi injetado 1 µL de amostra no cromatógrafo com a seguinte rampa de aquecimento: temperatura inicial 60 °C até 250 °C, com aquecimento de 3 °C min⁻¹.

Os componentes dos óleos essenciais foram identificados com base no índice aritmético (IA), determinados por meio da utilização de uma série homóloga

de hidrocarbonetos lineares saturados contendo de 8 a 35 átomos de carbono, injetados nas mesmas condições cromatográficas. Por meio do programa interpretativo automático, os espectros de massas dos compostos detectados foram comparados com os espectros existentes na biblioteca de massas NIST 14 (NIST, Gaithersburg, USA) e pela análise visual comparativa com os espectros de massas da literatura Adams (2017).

O índice aritmético foi calculado utilizando a equação abaixo (Equação 1):

$$IA = 100 \left[z + \frac{tr(x) - tr(z)}{tr(z + 1) - tr(z)} \right]$$

Onde:

z: número de átomos de carbono do hidrocarboneto padrão;

tr(x): tempo de retenção do analito, cujo valor encontra-se entre tr(z) e tr(z+1);

tr(z): tempo de retenção do hidrocarboneto padrão com z átomos de carbono;

tr(z+1): tempo de retenção do hidrocarboneto padrão com z+1 átomos de carbono.

3.4 CRIAÇÃO DA *Drosophila suzukii*

Espécimes de *D. suzukii* empregados em todos os bioensaios foram obtidos a partir da criação estabelecida em ambiente climatizado a 25 ± 1 °C, 70% $\pm$ 10% umidade relativa (UR) e fotoperíodo de 12 h. Os imaturos e adultos de *D. suzukii* foram acondicionados em garrafas (290,0 mL) contendo dieta artificial com ágar (8,0 g), farinha de milho (80,0 g), levedura (40,0 g), metil parabeno (0,8 g dissolvidos em 8,0 mL de álcool etílico com pureza de 99,9%), açúcar (100,0 g) e ácido propiônico (3,0 mL), as quais foram tamponadas com algodão hidrófilo (SCHLESENER et al., 2018). Antes de cada bioensaio, adultos com $\pm$ 7 dias de idade foram privados de alimento por 8 h, mas com fornecimento de água por meio de mechas de algodão hidrófilo.

A criação massal dos insetos e os testes de oviposição e tópico foram realizados no laboratório Ângelo Moreira da Costa Lima – UFPR, sob

responsabilidade da Profa Dra. Maria Aparecida Zwadneck. Esta etapa conta com a colaboração das Dras. Michele e Mireli Trombin.

3.5 PREPARAÇÃO DO *POOL*

Para a realização dos bioensaios foi preparado o *pool* dos óleos essenciais das espécies *P. arboreum*, *P. aff. divaricatum*, *P. fuligineum* e *P. hispidum*, que consiste no agrupamento dos óleos essenciais (de cada espécie individualmente) nas quatro estações do ano (coletados em dezembro/20 a novembro/21). Antes do agrupamento, os óleos essenciais foram analisados individualmente (em triplicata, de cada estação) pelo GC-EM, e verificou-se que a composição química dos óleos essenciais, não variava significativamente, permitindo agrupar as amostras.

Para as espécies *P. mikanianum* e *P. rivinoides* foram utilizados os óleos voláteis de apenas uma estação do ano, que estava disponível no laboratório de pesquisa.

3.6 BIOENSAIOS

3.6.1 Oviposição

Como substrato de oviposição foram preparados frutos artificiais com açúcar (19,0 g), gelatina de framboesa (10,0 g), metil parabeno (8,0 mL, consistindo em 0,80 g dissolvido em 8,0 mL de álcool etílico 99,9%), e água destilada (refluxo; 850,0 mL) (SCHLESENER et al., 2017). Com auxílio de um pulverizador manual foi aplicado sobre os frutos artificiais os *pools* individuais dos óleos essenciais de *Piper* spp. (*P. arboreum*, *P. aff. divaricatum*, *P. fuligineum*, *P. hispidum*, *P. mikanianum* e *P. rivinoides*) na concentração de 2,0% em acetona. Estes frutos artificiais foram colocados em uma sala com ar condicionado (25 ± 1 °C, $70\% \pm 10\%$ UR e fotoperíodo de 12 h) por três horas para evaporação do excesso de umidade.

Os frutos artificiais individualmente foram acondicionados em um recipiente plástico (500,0 mL), coberto na parte superior com tecido de *voile* para permitir as trocas gasosas com o ambiente interno e externo do recipiente. Três casais de *D. sukii* (idade de 7 dias) que haviam acasalado anteriormente foram então liberados. Após 24 h, os adultos foram removidos e os ovos depositados em cada

fruto artificial foram contados usando um microscópio estereoscópico. O experimento foi feito em blocos ao acaso, com 30 replicatas por tratamento.

3.6.2 Aplicação Tópica

Adultos de *D. suzukii* (20 insetos) com sete dias de idade foram separados e colocados em tubos de vidro transparente (1,3 cm de diâmetro x 10,0 cm de comprimento), os quais foram fechados na parte superior com algodão hidrófilo. Posteriormente, as moscas foram transferidas para uma placa de petri (9,0 cm de diâmetro), forrada com papel de filtro e sedadas em éter etílico por 40 a 60 s para impedir sua fuga, para a aplicação dos tratamentos (2,0 mL de solução de óleo essencial em acetona), nas concentrações de 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1,0%, 1,5% e 2,0%, com auxílio de um pulverizador manual. Após a pulverização, os insetos foram colocados em tubos de vidro contendo dieta artificial. Nas primeiras 24 h a mortalidade foi avaliada em intervalos de 1 h após a exposição às soluções. E após esse período, a cada 24 h até 120 h. O delineamento experimental foi realizado com 4 repetições de cada óleo essencial das seis espécies de *Piper*.

3.7 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS

A partir dos dados obtidos na identificação dos óleos essenciais em função da sazonalidade, foi realizada a Análise de Componentes Principais (PCA), do inglês ACP – *Principal Component Analysis*, analisados pela extensão PLS_toolbox 8.2 (Eigenvector, USA) no software MATLAB 2018a. Foram avaliadas diferentes pré-tratamentos e métodos de seleção de variáveis de forma a se obter os padrões de agrupamento tanto por espécie de planta quanto por estação do ano. Essa etapa conta com a colaboração do Prof. Dr. Frederico Luis Felipe Soares, do Departamento de Química – UFPR.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O projeto tem dois focos de estudos envolvendo óleos essenciais de espécies de *Piper*. O primeiro é um estudo de sazonalidade e o segundo é o

controle da praga *Drosophila suzukii* com o uso dos óleos essenciais. Inicialmente está discutido os óleos essenciais em função da sazonalidade.

Os óleos essenciais das cinco espécies de *Piper* (*P. arboreum*, *P. aff. divaricatum*, *P. fuligineum*, *P. hispidum* e *P. tuberculatum*) foram extraídos em meses alternados (dezembro de 2021, fevereiro, maio e agosto de 2022) na região de Tangará da Serra – MT onde existe apenas duas estações do ano, chuvosa (novembro a abril) e seca (maio a outubro).

4.1 RENDIMENTO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

O rendimento dos óleos essenciais de cinco espécies de *Piper* (TABELA 1) foi calculado a partir da massa de óleo essencial obtida em relação a massa de folhas secas utilizadas para a extração (em triplicata) (100 g de material vegetal). Os maiores rendimentos obtidos foram de *P. hispidum* no mês de fevereiro ($0,96 \pm 0,24$) e agosto ($0,44 \pm 0,07$), e de *P. arboreum* no mês de maio ($0,43 \pm 0,04$) e de dezembro ($0,39 \pm 0,02$). Os menores valores de rendimento foram das espécies de *P. fuligineum* em dezembro ($0,05 \pm 0,04$) e *P. tuberculatum* em todos os meses coletados.

Estudos descritos na literatura relatam que a composição química do OE é influenciada pela variação sazonal, porém mais em termos quantitativos do que qualitativos (JEMÂA et al., 2012).

TABELA 1 – RENDIMENTOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS (%) DAS ESPÉCIES *Piper arboreum*, *Piper aff. divaricatum*, *Piper fuligineum*, *Piper hispidum* e *Piper tuberculatum*.

Mês	Dezembro*	Fevereiro*	Maio*	Agosto*
<i>P. arboreum</i>	$0,39 \pm 0,02$	$0,24 \pm 0,05$	$0,43 \pm 0,04$	$0,38 \pm 0,08$
<i>P. aff. divaricatum</i>	$0,11 \pm 0,03$	$0,16 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,03$	$0,33 \pm 0,02$
<i>P. fuligineum</i>	$0,05 \pm 0,04$	$0,18 \pm 0,00$	$0,20 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,00$
<i>P. hispidum</i>	$0,29 \pm 0,02$	$0,96 \pm 0,24$	$0,36 \pm 0,10$	$0,44 \pm 0,07$
<i>P. tuberculatum</i>	$0,05 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,00$	$0,10 \pm 0,02$

*Média dos rendimentos obtidos das extrações realizadas em triplicata.

Piper aff. divaricatum é uma espécie nova, está sob identificação botânica que quando finalizada, receberá um nome próprio. Sua grande semelhança botânica com *P. divaricatum* nos permite comparar seus óleos essenciais. Os rendimentos de seus óleos essenciais foram menores do que os já reportados na

literatura para a espécie *P. divaricatum* (SILVA et al., 2014a; SILVA et al., 2014b; SOUTO et al., 2012). Já para *P. arboreum* e *P. hispidum* os valores de rendimento nos meses coletados correspondem com os apresentados em outros estudos, 0,10% a 1,12% e 0,30% a 1,00% respectivamente (SILVA et al., 2014; POTZERNHEIM et al., 2006; LIMA et al., 2019; DUTRA et al., 2020). Os valores de rendimento para *P. tuberculatum* encontram-se dentro do que foi relatado na literatura, que variam de 0,02% a 0,70% (CYSNE et al., 2005; LAVOR et al., 2014; MORANDIM-GIANNETTI et al., 2010).

Análises feitas em outras pesquisas relacionam a diferença no rendimento ao estágio do ciclo vegetativo da planta, em que plantas no estágio inicial apresentam maior rendimento do óleo essencial quando comparado ao estágio de maturação máxima (LI et al., 2013; LIU et al., 2015). Porém, sabe-se que cada espécie de planta responde de formas diferentes a estes fatores. Outros possíveis fatores para a diferença no rendimento podem estar relacionados a disponibilidade hídrica, características do solo, quantidade de luz incidente, temperatura, clima e altitude (FIGUEIREDO et al., 2008).

Para uma melhor compreensão na análise dos óleos essenciais de cada espécie de *Piper*, e na classificação das estações na região (estações chuvosa e seca), além de avaliar possíveis fatores que possam vir a influenciar na composição química dos óleos essenciais, na TABELA 2 pode-se observar os dados de precipitação total mensal e temperatura média mensal nos meses de coleta e antecessor a eles na região de Tangará da Serra.

TABELA 2 - PRECIPITAÇÃO TOTAL E TEMPERATURA MENSAL EM TANGARÁ DA SERRA.

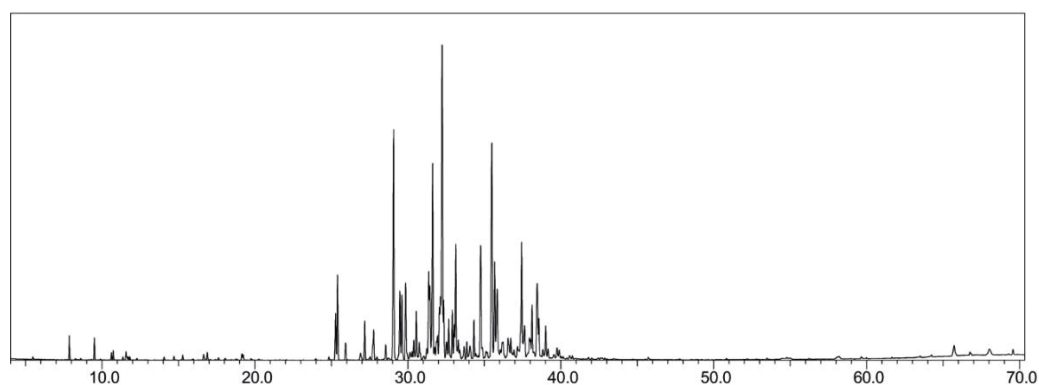
Estação	Mês	Precipitação total mensal (mm)	Temperatura média mensal (°C)
Chuvosa	nov/21	133,0	25
	dez/21*	2,0	26
	jan/22	0,0	26
	fev/22*	0,2	26
	mar/22	1,4	24
	abr/22	2,0	25
	total	138,6	-
Seca	mai/22*	0,0	23
	jun/22	109,6	22
	jul/22	0,0	25
	ago/22*	26,2	24
	set/22	18,4	26
	total	154,2	-

FONTE: Instituto Nacional de Meteorologia - INMET

*Meses de coleta das cinco espécies de *Piper*

4.2 ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper arboreum*

A partir da integração das áreas dos picos nos cromatogramas foi possível obter a área relativa de cada constituinte presente na amostra, possibilitando a identificação de 62 compostos nos diferentes meses analisados (TABELA 3), pertencentes às classes: monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados. O cromatograma da análise do OE das folhas secas no mês de dezembro está na FIGURA 5.

FIGURA 5 - CROMATOGRAMA DA *Piper arboreum* NO MÊS DE DEZEMBRO (ESTAÇÃO CHUVOSA).

Na composição dos óleos essenciais nos quatro meses coletados, foram observados os compostos majoritários biciclogermacreno (8,43% - 19,14%), (*E*)-

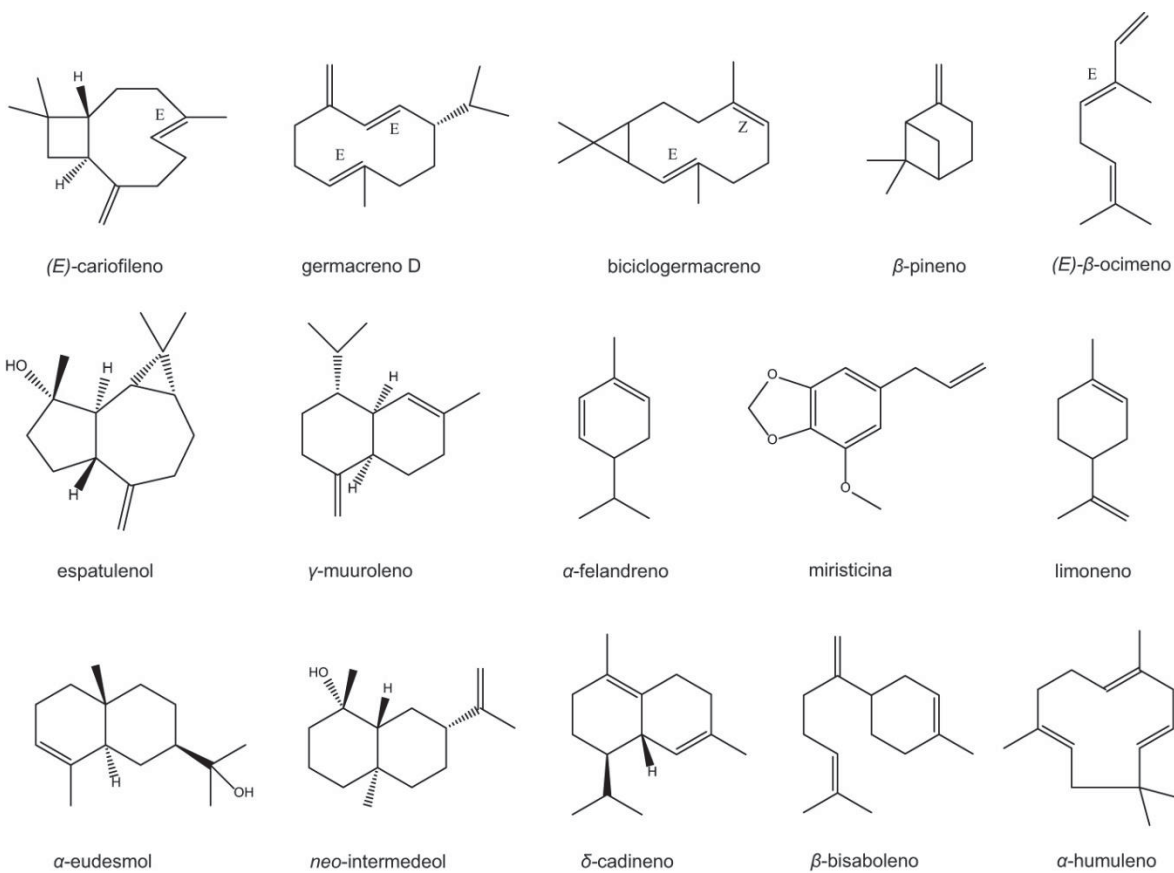
cariofileno (8,08% - 9,72%) e germacreno D (6,53% - 8,58%). Nos meses de dezembro e maio o composto majoritário foi o espatulenol (6,92% - 6,75%). Em agosto tem-se como majoritário o α -felandreno (5,35%).

Alguns compostos como α -copaeno, amofa-4,7(11)-dieno e γ -amorfenol foram encontrados apenas em dezembro. Já o composto β -selineno foi identificado somente nos meses de maio e agosto. O QUADRO 1 mostra as estruturas dos compostos majoritários nas cinco espécies de *Piper* ao longo dos quatro meses analisados.

De acordo com Silva et al. (2014a) os compostos majoritários presentes nas folhas da *P. arboreum* do Distrito de Una - Bahia, foram: biciclogermacreno (28,70%), β -copaen-4- α -ol (13,30%) e (*E*)-cariofileno (8,60%). Em outro estudo, Lima et al. (2019) observou a presença dos majoritários: biciclogermacreno (23,70%), (*E*)-cariofileno (18,00%) e δ -elemeno (5,00%) nas folhas coletadas no verão em Nossa Senhora do Socorro - Sergipe. Dutra et al. (2020) também observou (*E*)-cariofileno (8,20%) e germacreno D (6,50%) como majoritários, além de zingibereno (14,90%).

Na pesquisa de Navickiene et al. (2006), a coleta ocorreu em Ibaté - SP, e os majoritários foram: biciclogermacreno (49,50%), (*E*)-cariofileno (25,10%) e germacreno D (9,60%). No estudo de Potzernheim et al. (2006) ocorrido na Fazenda Sucupira em Brasília, foi verificado também a presença de biciclogermacreno (12,10%) e outros majoritários como β -eudesmol (11,60%) e óxido de cariofileno (10,20%). Na maior parte desses estudos a variabilidade química dos óleos essenciais foi observada em regiões geográficas diferentes, com diferenças no clima, solo e outros fatores, tornando difícil a distinção com precisão entre os fatores genéticos e ambientais como sendo os causadores na mudança da composição do óleo essencial.

QUADRO 1 - COMPOSTOS MAJORITÁRIOS PRESENTES NAS CINCO ESPÉCIES DE *Piper*.
(continua)



QUADRO 2 - COMPOSTOS MAJORITÁRIOS PRESENTES NAS CINCO ESPÉCIES DE *Piper*.

(conclusão)

Nome (Compostos Majoritários)	<i>Piper arboreum</i>	<i>Piper aff. divaricatum</i>	<i>Piper fuliginum</i>	<i>Piper hispidum</i>	<i>Piper tuberculatum</i>
	(E)-cariofileno; germacreno D; biciclogermacreno; espatulenol; γ -muuroleno; α -felandreno.	germacreno D; miriticina; limoneno; α -eudesmol; α -felandreno.	(E)-cariofileno; germacreno D; biciclogermacreno; β -pineno; γ -muuroleno; espatulenol; (E)- β -ocimeno; neo-intermedeol.	(E)-cariofileno; germacreno D; biciclogermacreno; γ -muuroleno; espatulenol; δ -cadineno	(E)-cariofileno; germacreno D; biciclogermacreno; β -pineno; limoneno; α -humuleno; β -bisaboleno; espatulenol.

TABELA 3 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper arboreum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(continua)

<i>Piper arboreum</i>			chuvaso						seco					
			dezembro			fevereiro			maio			agosto		
			%	DP	%	%	DP	%	%	DP	%	%	DP	%
n°	IA ^a	IA ^b	Composto											
1	933	932	α -pineno		3,20	2,30	0,35	0,76	0,35	0,62	0,55	2,05	0,72	
2	979	974	β -pineno		2,23	1,46	0,28	0,08	0,33	0,37	0,19	0,21	0,06	
3	1007	1002	α -felandreno		0,61	0,39	1,38	0,47	0,37	0,22	5,35	1,23		
4	1010	1008	δ -3-careno		0,81	0,51	0,81	0,26	0,55	0,52	3,34	0,74		
5	1022	1020	<i>p</i> -cimeno		-	-	0,35	0,05	-	-	-	-	-	
6	1027	1024	limoneno		0,61	0,34	0,98	0,29	0,50	0,35	2,83	0,59		
7	1028	1025	β -felandreno		-	-	0,30	0,05	0,16	0,14	1,00	0,15		
8	1034	1032	<i>(Z)</i> - β -ocimeno		-	-	-	-	-	-	0,78	0,16		
9	1083	1086	terpinoleno		-	-	0,35	0,05	-	-	0,79	0,10		
10	1143	1135	<i>trans</i> -pinocarveol		0,19	0,04	-	-	-	-	-	-	-	
11	1148	1140	<i>trans</i> -verbenol		0,23	0,02	-	-	-	-	-	-	-	
12	1197	1195	myrtenal		0,19	0,04	-	-	-	-	-	-	-	
13	1332	1335	δ -elemeno		-	-	1,25	0,05	0,96	0,05	1,27	0,06		
14	1348	1348	α -cubebeno		0,53	0,04	0,57	0,05	0,52	0,08	0,37	0,03		
15	1371	1373	α -ylangeno		0,28	0,03	0,84	0,07	1,00	0,05	0,83	0,11		
16	1377	1374	α -copaeno		1,24	0,08	-	-	-	-	-	-	-	
17	1390	1387	β -cubebeno		0,40	0,06	-	-	0,26	0,02	0,21	0,04		
18	1391	1389	β -elemeno		0,85	0,05	-	-	0,40	0,06	0,32	0,07		
19	1402	1409	α -gurjuneno		-	-	-	-	0,35	0,01	-	-	-	
20	1422	1417	<i>(E)</i> -cariofileno		8,08	0,55	9,24	0,12	8,57	0,53	9,72	0,10		
21	1425	1430	β -copaeno		-	-	1,27	0,06	1,19	0,04	1,05	0,07		
22	1434	1432	α - <i>trans</i> -bergamoteno		1,57	0,09	2,24	0,02	2,63	0,06	2,40	0,25		
23	1440	1439	aromadendreno		2,50	0,09	2,83	0,08	3,14	0,15	2,76	0,19		
24	1441	1442	6,9-guaiadieno		-	-	-	-	0,27	0,03	-	-	-	
25	1450	1452	α -humuleno		-	-	2,04	0,05	1,53	0,04	1,36	0,02		
26	1453	1454	<i>(E)</i> - β -farneseno		0,60	0,13	-	-	-	-	-	-	-	

TABELA 4 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper arboreum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(continua)

		<i>Piper arboreum</i>	chuvaso				seco			
			dezembro	fevereiro	maio	agosto	dezembro	fevereiro	maio	agosto
27	1462	1458	0,46	0,04	0,67	0,08	0,58	0,02	0,29	0,04
28	1464	1461	-	-	-	-	0,23	0,01	-	-
29	1474	1475	0,39	0,07	1,18	1,30	0,34	0,01	2,60	0,18
30	1477	1478	3,35	0,97	3,62	2,16	5,15	0,23	1,51	0,10
31	1479	1479	1,65	0,39	-	-	-	-	-	-
32	1483	1480	6,53	0,53	8,26	0,08	6,63	0,15	8,58	0,37
33	1484	1483	-	-	-	-	-	-	0,28	0,02
34	1485	1489	-	-	-	-	1,23	0,08	0,78	0,05
35	1488	1493	-	-	-	-	0,76	0,08	-	-
36	1489	1492	0,43	0,08	1,86	0,11	1,56	0,08	1,05	0,00
37	1491	1492	0,57	0,20	0,67	0,08	-	-	-	-
38	1494	1495	1,49	0,27	-	-	-	-	-	-
39	1498	1500	8,43	1,65	12,42	0,16	14,86	0,55	19,14	0,34
40	1500	1500	1,49	0,10	1,55	0,05	1,59	0,05	1,25	0,11
41	1501	1505	-	-	-	-	-	-	0,59	0,03
42	1504	1505	-	-	1,23	0,01	-	-	0,41	0,08
43	1505	1511	0,69	0,05	1,88	0,02	1,92	0,09	1,24	0,02
44	1512	1513	1,50	0,04	3,85	0,08	0,82	0,09	0,81	0,08
45	1514	1514	-	-	-	-	3,71	0,35	3,28	0,07
46	1521	1522	3,27	0,36	0,57	0,02	-	-	-	-
47	1534	1533	0,40	0,07	-	-	0,47	0,06	0,28	0,05
48	1539	1537	0,56	0,04	-	-	0,59	0,15	0,39	0,05
49	1544	1545	0,57	0,09	-	-	-	-	-	-
50	1551	1548	1,04	0,19	-	-	0,68	0,13	-	-
51	1552	1559	-	-	3,48	0,04	3,62	0,08	4,73	0,02

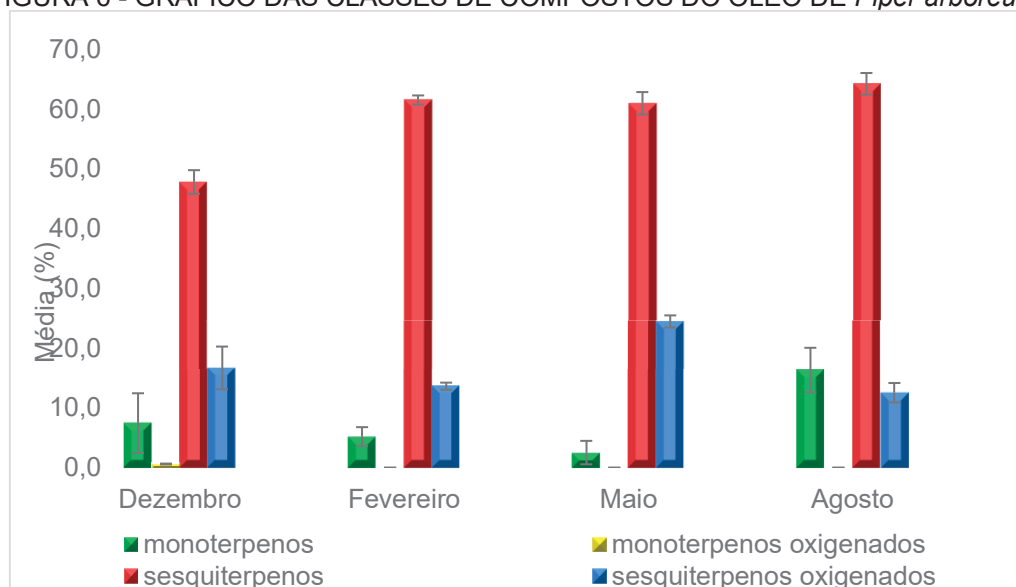
TABELA 5 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper arboreum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(conclusão)

Piper arboreum			chuvaso				seco				
			dezembro	fevereiro	maio	agosto					
52	1562	1561	(E)-nerolidol	3,72	0,62	1,61	0,27	0,80	0,14	-	-
53	1581	1577	espatulenol	6,92	1,81	5,13	0,17	6,75	0,50	3,78	0,52
54	1585	1582	óxido cariofileno	2,67	0,43	2,25	0,12	2,03	0,14	0,96	0,15
55	1587	1590	globulol	-	-	-	-	1,30	0,54	1,11	0,22
56	1613	1608	humuleno epóxido II	0,36	0,09	-	-	-	-	-	-
57	1623	1627	1- <i>epi</i> -cubenol	-	-	-	-	1,98	0,27	-	-
58	1637	1638	<i>epi</i> - α -cadinol	-	-	-	-	0,64	0,09	-	-
59	1638	1640	<i>epi</i> - α -muurolol	-	-	-	-	0,44	0,04	-	-
60	1641	1644	α -muurolol	1,11	0,32	1,23	0,07	1,44	0,24	0,76	0,22
61	1649	1652	α -eudesmol	-	-	2,78	0,10	3,19	0,47	2,18	0,47
62	1662	1658	neo-intermedeol	0,87	0,18	0,65	0,06	0,75	0,09	0,47	0,10
Total Identificados (%)				72,59	80,38	87,41	93,11				
Índice aritmético calculado. ^b Índice aritmético da literatura (ADAMS, 2017). % - Média da triplicata. DP – Desvio Padrão. Compostos não detectados - representados por (-).											
Classe			Dezembro	Fevereiro	Maio	Agosto					
monoterpeno			7,46	5,22	2,53	16,34					
monoterpeno oxigenado			0,62	0,00	0,00	0,00					
sesquiterpeno			47,81	61,52	60,97	64,23					
sesquiterpeno oxigenado			16,70	13,64	24,47	12,55					

Pelo gráfico (FIGURA 6) observou-se que há uma predominância de sesquiterpenos (média de 58,63%), sesquiterpenos oxigenados (aproximadamente 16,84%), e monoterpenos (cerca de 7,89%) nos quatro meses analisados. O óleo essencial da planta no mês de dezembro foi o único que apresentou monoterpenos oxigenados (0,62%).

FIGURA 6 - GRÁFICO DAS CLASSES DE COMPOSTOS DO ÓLEO DE *Piper arboreum*.



Os perfis dos óleos essenciais de *P. arboreum* coletadas em fevereiro e em maio são similares, sendo ambos constituídos por sua maioria de sesquiterpenos (média de 61,24%), e apresentam quantidades próximas de monoterpenos (cerca de 3,88%).

Observa-se que a classe de monoterpenos foi encontrado em maiores proporções no mês de dezembro e no mês de agosto, sendo esse último o mês de maior produção desta classe (16,34%). Na TABELA 2 é possível observar que no mês de dezembro (estação chuvosa) teve uma precipitação total mensal de 2,0 mm com uma temperatura média mensal de 26 °C, já para o mês de agosto (estação seca) a precipitação foi de 26,2 mm e temperatura de 24 °C. O fator precipitação pode estar influenciando na biossíntese dessa classe, considerando que os meses de fevereiro e maio tiveram as menores taxas de precipitação e as temperaturas foram próximas entre todos os meses.

Para a classe de sesquiterpenos observa-se que o perfil tende a crescer conforme vai saindo da estação chuvosa e entrando na estação seca, e à medida que a temperatura vai diminuindo. Na classe de sesquiterpenos oxigenados pode-

se verificar um comportamento cíclico, em que os meses de maiores proporções são dezembro e maio, e os de menores valores são fevereiro e agosto. Observa-se que há uma diminuição da classe de sesquiterpenos e um aumento na classe de sesquiterpenos oxigenados.

4.2.1 Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade nos óleos essenciais de *Piper arboreum*

Procurando uma melhor visualização das similaridades e/ou diferenças entre as amostras nos diferentes meses do ano, foi realizado a Análise de Componentes Principais (ACP). Para a análise avaliaram-se os *scores* e os *loadings*, considerando os valores das réplicas para cada mês.

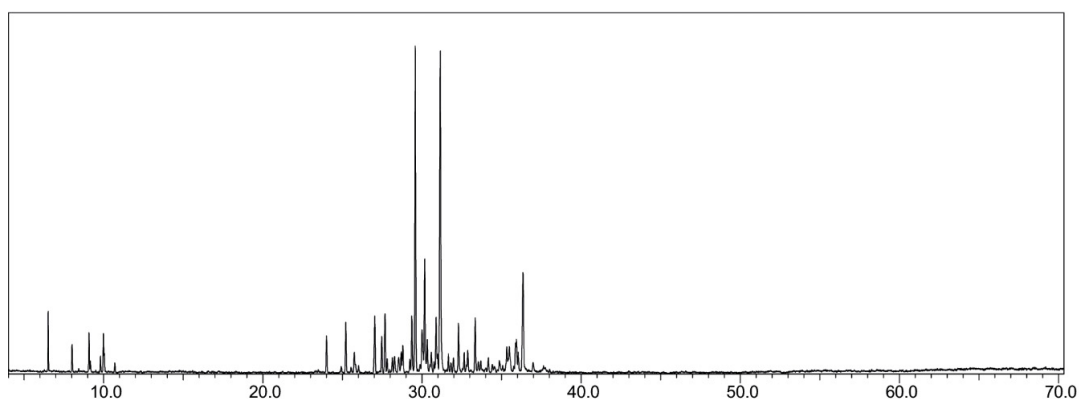
No gráfico de *scores* (FIGURA 7) dos OEs obtidos das folhas secas da *P. arboreum*, nota-se que a Componente Principal 1 (PC1) explica 52,31% da variância dos dados e a Componente Principal 2 (PC2) explica 23,68%, totalizando em 75,99% da variância dos dados. Tais PCs são suficientes para apontar as diferenças da composição entre os óleos essenciais em todos os meses. Para a PC1, uma diferença significativa foi apontada entre os meses dezembro e agosto, enquanto entre os meses fevereiro e maio não houve grande discriminação. Por outro lado, a PC2 conseguiu apresentar uma diferença entre as amostras coletadas em maio e fevereiro.

pineno, δ -cadineno e (*E*)-nerolidol. Para o mês de fevereiro é possível observar no gráfico que tanto para a PC1 quanto para PC2 este mês está bem centralizado não apresentando uma diferença significativa nos compostos presentes no óleo essencial da *P. arboreum*. Para o mês de maio foram o γ -muuroleno, α -eudesmol e 1-*epi*-cubenol, para o mês de agosto os compostos biciclogermacreno, germacreno D, α -felandreno, 3- δ -careno e *trans*-cadina-1(6).4-dieno os responsáveis pela variação na composição do óleo quando comparado com os demais meses.

4.3 ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper* aff. *divaricatum*

A *P. aff. divaricatum* está sendo identificada como uma espécie nova, ainda sem nome, e por apresentar uma grande afinidade com a *P. divaricatum*, leva em seu nome o *affinis* (aff). No óleo essencial foi identificado em média 90,33% dos compostos das folhas secas de *P. aff. divaricatum*, totalizando a identificação de 62 compostos nos quatro meses estudados (TABELA 4). O cromatograma da análise do OE no mês de dezembro está na FIGURA 9.

FIGURA 9 - CROMATOGRAMA DA *Piper* aff. *divaricatum* NO MÊS DE DEZEMBRO (ESTAÇÃO CHUVOSA).



Foi encontrado como composto majoritário em todos os meses a miristicina, em maiores quantidades em fevereiro (36,74%) e maio (28,01%). Nos meses de dezembro e agosto se observou outro composto majoritário: germacreno D (13,28% e 18,28% respectivamente) (QUADRO 1). No mês de agosto apresentou majoritários como α -pineno (11,11%), biciclogermacreno (6,78%) e α -felandreno (6,39%).

Constituintes como *cis*-muurola-4(14),5-dieno (0,93%) e *cis*- β -guaieno (0,92%) foram encontrados somente no óleo essencial de *P. aff. divaricatum* de maio. Para os compostos: α -guaieno (0,86%), *trans*-muurola-4(14),5-dieno (1,43%) e γ -amorfeno (0,87%) foram observados apenas em fevereiro. Sesquiterpenos como α -copaeno (3,82% e 2,25%) e β -cubebeno (0,88%) foram verificados em dezembro e agosto respectivamente. A FIGURA 11 mostra as estruturas dos compostos responsáveis pela variância dos dados dos OEs da *P. aff. divaricatum*.

Ao comparar os dados de *P. aff. divaricatum*, com os dados da literatura de *P. divaricatum* é possível notar que há diferenças na composição dos óleos essenciais. A seguir, os relatos referentes aos óleos essenciais de *P. divaricatum*. Segundo Silva et al. (2014a) no Distrito de Una na Bahia, os compostos majoritários foram: germacreno D (9,40%), valenceno (11,10%) e γ -cadineno (11,00%). Em outro trabalho, realizado na Serra de Guaramiranga no Ceará, por Almeida et al. (2009) os constituintes majoritários foram β -pineno (19,30%), linalool (19,30%) e α -pineno (13,60%). Silva et al. (2014b) observaram nos óleos essenciais compostos majoritários como metileugenol (77,10%) e eugenol (7,90%). No trabalho de Souto et al. (2012) em Breves no Pará, verificou-se também a presença dos mesmos arilpropanoides relatados no trabalho de Silva: metileugenol (69,20%) e eugenol (16,20%) como compostos majoritários. Pereira et al. (2021) em Mangaratiba no Rio de Janeiro, observou a presença de majoritários como germacreno D (24,70%), biciclogermacreno (8,20%) e α -copaeno (6,86%).

Apesar de neste trabalho apresentar majoritários como germacreno D no óleo essencial de *P. aff. divaricatum* nos meses de dezembro e agosto, assim como foi relatado nos trabalhos de Silva et al. (2014b) e Pereira et al. (2021), e o α -pineno no mês de agosto tal qual no estudo de Almeida et al. (2009), não se observou a presença de miristicina em outros trabalhos descritos na literatura. Para a espécie *P. aff. divaricatum*, pode-se observar o composto, em todos os meses estudados, apresentando uma alta porcentagem na totalidade identificada do óleo.

TABELA 6 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper* aff. *divaricatum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(continua)

Piper aff. divaricatum											
				chuvoso			seco				
				dezembro		fevereiro		maio		agosto	
n°	IA ^a	IA ^b	Composto	%	DP	%	DP	%	DP	%	DP
1	926	924	α -thujeno	-	-	-	-	-	-	0,35	0,04
2	931	932	α -pineno	3,67	1,53	4,06	1,41	1,62	1,06	11,11	0,95
3	975	974	β -pineno	1,53	0,49	1,31	0,37	0,74	0,43	3,92	0,41
4	989	988	mirreno	-	-	-	-	-	-	0,59	0,05
5	1005	1002	α -felandreno	1,78	0,29	0,90	0,16	0,27	0,14	6,39	0,47
6	1007	1008	3- δ -careno	0,49	0,18	-	-	-	-	2,52	0,22
7	1023	1020	p -cimeno	-	-	-	-	0,21	0,11	1,29	0,12
8	1027	1024	limoneno	1,69	0,18	0,71	0,19	0,40	0,17	5,01	0,86
9	1028	1025	β -felandreno	0,69	0,12	1,16	0,28	-	-	1,15	0,83
10	1035	1032	(Z)- β -ocimeno	-	-	-	-	-	-	0,14	0,12
11	1044	1044	(E)- β -ocimeno	0,42	0,08	-	-	-	-	1,74	0,12
12	1087	1085	p -mentha-2,4(8)-dieno	-	-	-	-	-	-	0,39	0,04
13	1343	1348	α -cubebeno	1,45	0,19	1,39	0,13	1,96	0,20	1,40	0,07
14	1369	1373	α -ylangeno	2,10	0,35	2,19	0,16	0,47	0,06	0,30	0,02
15	1370	1374	α -copaeno	-	-	-	-	3,82	0,31	2,25	0,09
16	1380	1387	β -bourboleno	-	-	-	-	0,35	0,03	-	-
17	1384	1387	β -cubebeno	0,88	0,14	-	-	-	-	0,88	0,05
18	1414	1417	(E)-cariofileno	2,72	0,52	2,85	0,58	4,15	0,23	2,25	0,09
19	1425	1430	β -copaeno	1,52	0,27	2,02	0,11	3,17	0,23	1,04	0,08
20	1429	1432	α -trans-bergamoteno	2,34	0,46	2,82	0,17	4,08	0,13	1,37	0,04
21	1433	1437	α -guaiano	-	-	0,86	0,08	-	-	-	-
22	1435	1439	aromadendreno	0,52	0,16	-	-	1,45	0,03	0,32	0,05
23	1438	1448	cis-muurola-3,5-dieno	-	-	-	-	0,67	0,03	0,43	0,06
24	1442	1451	trans-muurola-3,5-dieno	-	-	-	-	0,60	0,03	-	-
25	1450	1452	α -humuleno	-	-	0,83	0,05	0,75	0,02	0,34	0,02
26	1452	1454	(E)- β -farneseno	0,92	0,10	-	-	-	-	-	-

TABELA 7 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper* aff. *divaricatum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(continua)

		<i>Piper</i> aff. <i>divaricatum</i>	chuvisco				seco			
			dezembro	fevereiro	maio	agosto	dezembro	fevereiro	maio	agosto
27	1454	1458	1,11	0,09	0,77	0,12	0,82	0,04	0,99	0,04
28	1457	1461	-	-	0,74	0,07	0,90	0,04	0,65	0,07
29	1464	1465	-	-	-	-	0,93	0,02	-	-
30	1467	1471	-	-	0,67	0,05	-	-	0,13	0,01
31	1470	1478	-	-	2,88	0,13	4,00	0,12	1,34	0,04
32	1476	1480	13,28	3,11	5,36	0,32	4,58	0,13	18,28	0,53
33	1479	1489	-	-	-	-	0,54	0,01	-	-
34	1482	1492	-	-	-	-	0,92	0,06	-	-
35	1486	1493	-	-	1,43	0,10	-	-	-	-
36	1487	1495	-	-	0,87	0,12	-	-	-	-
37	1490	1500	4,81	0,38	2,37	0,45	3,19	0,08	6,78	0,18
38	1493	1500	1,45	0,17	1,59	0,15	1,90	0,10	0,76	0,06
39	1500	1505	-	-	-	-	0,54	0,24	-	-
40	1506	1511	-	-	-	-	-	-	0,18	0,03
41	1508	1513	2,34	0,16	2,80	0,26	3,85	0,08	1,83	0,07
42	1510	1514	-	-	-	-	1,02	0,03	0,57	0,05
43	1514	1517	18,71	2,32	36,74	3,24	28,01	2,34	11,47	0,62
44	1524	1521	-	-	-	-	-	-	0,28	0,09
45	1527	1533	-	-	0,85	0,18	-	-	0,22	0,11
46	1531	1537	0,40	0,02	0,56	0,04	0,85	0,02	0,24	0,03
47	1535	1544	0,61	0,07	0,95	0,06	1,41	0,06	0,42	0,03
48	1539	1546	-	-	-	-	0,71	0,04	-	-
49	1543	1548	1,80	0,31	0,98	0,08	-	-	1,00	0,07
50	1552	1559	0,87	0,08	0,64	0,04	-	-	0,75	0,07
51	1558	1561	0,87	0,09	0,72	0,19	-	-	0,85	0,08

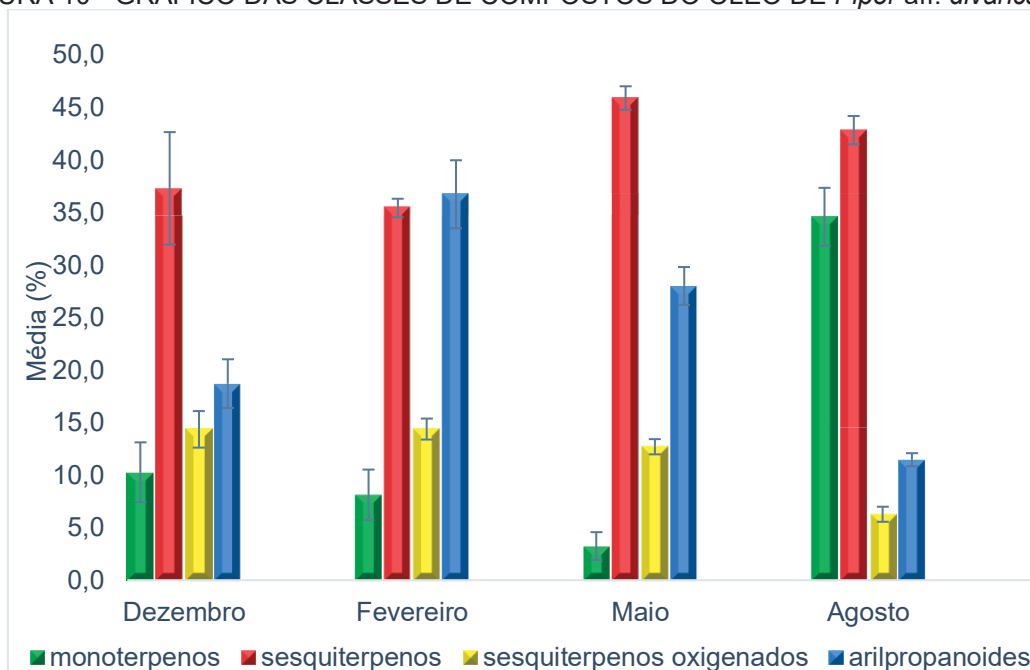
TABELA 8 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper* aff. *divaricatum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(conclusão)

<i>Piper</i> aff. <i>divaricatum</i>			chuvoso				seco					
			dezembro		fevereiro		maio		agosto			
52	1570	1577	espatulenol		2,20	0,27	2,46	0,08	2,75	0,14	-	-
53	1600	1600	guaial		-	-	-	-	-	-	0,26	0,04
54	1622	1627	1- <i>epi</i> -cubenol		1,15	0,25	0,93	0,59	-	-	0,29	0,05
55	1624	1629	eremoligenol		0,29	0,11	0,61	0,05	-	-	-	-
56	1626	1630	γ -eudesmol		1,19	0,30	1,62	0,06	-	-	-	-
57	1636	1638	α - <i>epi</i> -cadinol		0,83	0,28	0,64	0,17	0,78	0,06	-	-
58	1638	1640	α - <i>epi</i> -muurolol		1,28	0,25	0,67	0,10	0,80	0,12	-	-
59	1640	1644	α -muurolol		1,50	1,14	0,66	0,13	0,64	0,12	-	-
60	1646	1645	cubenol		-	-	-	-	-	-	0,40	0,06
61	1649	1652	α -eudesmol		4,18	0,70	5,11	0,27	6,00	0,61	2,16	0,35
62	1677	1675	cadaleno		-	-	-	-	-	-	0,17	0,04
Total Identificado (%)					81,59	94,72		89,85		95,20		
^a Índice aritmético calculado ^b Índice aritmético da literatura (ADAMS, 2017). % - Média da triplicata. DP – Desvio Padrão. Compostos não detectados - representados por (-).												
Classe			Dezembro		Fevereiro			Maio		Agosto		
monoterpenos			10,27		8,14			3,24		34,59		
sesquiterpenos			37,30		35,43			45,90		42,84		
sesquiterpenos oxigenados			14,36		14,39			12,70		6,28		
arilpropanoídes			18,71		36,74			28,01		11,47		

Pode-se observar (FIGURA 10) que há a predominância das classes de sesquiterpenos e arilpropanoides em todos os meses estudados. A classe de monoterpenos apresenta seus maiores valores nos meses de dezembro e de agosto, chegando em seu máximo no em agosto (34,59%). A maior precipitação ocorreu em agosto, seguida por dezembro e depois em maio e fevereiro muito próximas. Como observado para *P. arboreum*, aqui também se repete uma tendência de maior teor dos monoterpenos quando ocorre maior precipitação.

FIGURA 10 - GRÁFICO DAS CLASSES DE COMPOSTOS DO ÓLEO DE *Piper aff. divaricatum*.



A classe de arilpropanoides apresenta seus valores máximos nos meses de fevereiro (36,74%) e maio (28,01%), e o menor valor no mês de agosto (11,47%). Essas concentrações estão em concordância com menores valores de precipitação nos meses de fevereiro e maio, e poderá ter a influência na biossíntese dessa classe.

Para a classe de sesquiterpenos há um comportamento cíclico, sendo que em fevereiro (35,43%) há uma diminuição quando comparado ao mês de dezembro (37,30%), aumentando no mês de maio (45,90%) e diminuindo novamente em agosto (42,84%). Entende-se que provavelmente a questão hídrica e a temperatura não são os fatores determinantes que alteram na proporção desta classe.

Na classe de sesquiterpenos oxigenados nota-se que há um aumento em seus valores nos meses de dezembro (14,36%) e fevereiro (14,39%), sendo os meses que apresentam maiores temperaturas (26 °C) quando comparado aos

meses de maio (12,70%) e agosto (6,28%) com menores temperaturas (23 e 24 °C respectivamente).

4.3.1 Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade na óleos essenciais de *Piper aff. divaricatum*

Realizou-se a Análise de Componentes Principais (ACP) para uma melhor visualização das semelhanças e/ou diferenças entre as amostras em diferentes meses do ano. Para a análise avaliaram-se os *scores* e os *loadings*, considerando os valores das réplicas para cada mês, para avaliar as distinções nos óleos essenciais de cada uma das amostras.

No gráfico de *scores* (FIGURA 11) dos óleos de *P. aff. divaricatum*, foi observado que a Componente Principal 1 (PC1) explica 64,48% da variância dos dados e a Componente Principal 2 (PC2) explica 19,54% totalizando em 83,02% da variância dos dados. Essa porcentagem é suficiente para apontar as diferenças na composição entre os óleos extraídos em meses alternados. Nota-se pela PC1 a diferença dos OEs dos meses de dezembro, fevereiro e agosto. Pela PC2 observou-se a diferença entre os meses de fevereiro e maio.

FIGURA 11 - GRÁFICO DE SCORES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper aff. divaricatum*.

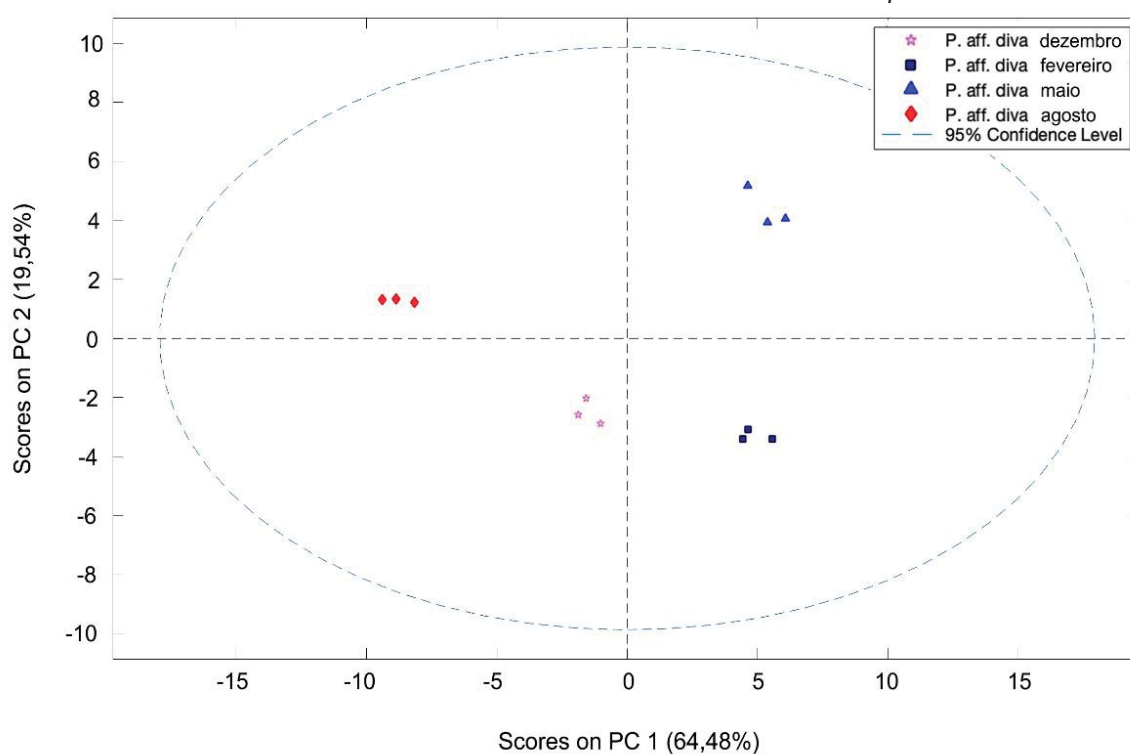
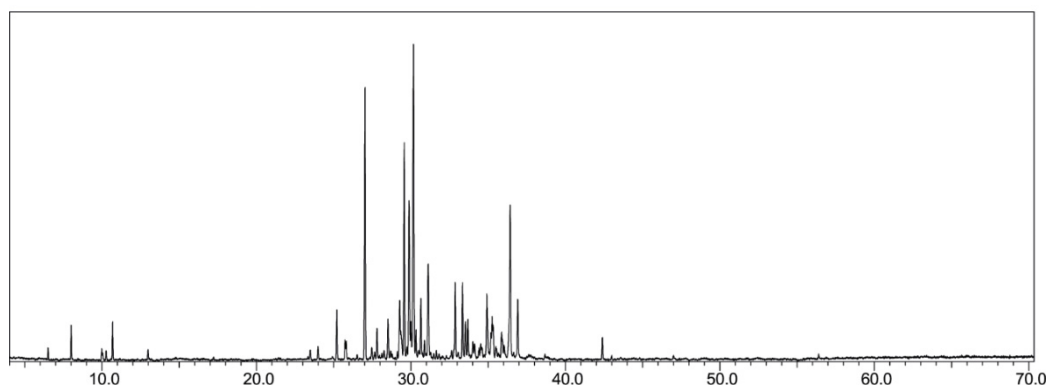


FIGURA 13 - CROMATOGRAMA DA *Piper fuliginum* NO MÊS DE DEZEMBRO (ESTAÇÃO CHUVOSA).



O biciclogermacreno foi um dos compostos majoritários para todos os meses analisados, apresentando porcentagens maiores para os meses de dezembro (15,80%) e maio (14,82%). O (*E*)-cariofileno e germacreno D também foram compostos majoritários em todos os 4 meses, em maior teor no mês de agosto (13,85%) e maio (13,48%), respectivamente (QUADRO 1). Em fevereiro, observou-se o γ -muuroleno (8,61%) entre os majoritários. No mês de agosto, outros constituintes majoritários também foram identificados, como o (*E*)- β -ocimeno (10,67%) e β -pineno (10,19%).

Observa-se que os compostos α -copaeno (2,39%) e γ -gurjuneno (1,21%) estavam presentes apenas no mês de maio. Os constituintes (*E*)-nerolidol (3,16% e 2,53%), linalool (0,92% e 0,57%) e (*E,E*)- α -farneseno (2,23% e 1,14%) foram encontrados apenas nos meses de dezembro e fevereiro. O sesquiterpeno oxigenado espatulenol, apesar de ser identificado em todos os meses, apresentou maior teor no mês de fevereiro (5,13%) e maio (9,69%).

Em estudos recentes, Krinski et al. (2018) apresentam como compostos majoritários a asaricina (10,80%), o δ -cadineno (6,69%) e o biciclogermacreno (5,64%). Já para o óleo essencial deste trabalho, biciclogermacreno foi um dos compostos majoritários e o δ -cadineno foi observado em menores concentrações em todos os meses analisados (3,10% a 4,80%), e não foi detectada a presença de asaricina, um arilpropanoide. Sabe-se que a biossíntese de terpenos (caminho do MVA e caminho do MEP) e arilpropanoides (via ácido chiquímico) são por rotas biossintéticas diferentes, uma possível explicação para a divergência de resultados seria que uma mesma espécie de planta coletada em regiões geográficas diferentes pode apresentar variações, originando diferentes quimiotipos. A planta tende a se adaptar às diferenças singulares de cada região, como diferentes tipos

de solo, diferentes altitudes, herbivoria, exposição solar e outros fatores (FIGUEIREDO et al., 2008). No estudo descrito na literatura, a espécie de *P. fuligineum* foi coletada na região de São Paulo, e para este estudo a coleta foi realizada no Mato Grosso.

TABELA 9 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper fuliginum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(continua)

n°		IA ^a	IA ^b	Composto	chuvoso				seco			
					dezembro		fevereiro		maio		agosto	
					%	DP	%	DP	%	DP	%	DP
1	931	932		α -pineno	0,58	0,33	1,93	0,43	1,29	0,07	3,79	1,26
2	975	974		β -pineno	1,84	0,81	4,72	0,72	3,43	0,17	10,19	2,33
3	988	988		mirreno	-	-	-	-	-	-	0,14	0,12
4	1027	1024		limoneno	0,81	0,16	0,37	0,15	0,48	0,06	0,89	0,16
5	1034	1032		(Z)- β -ocimeno	0,62	0,12	0,49	0,04	0,38	0,14	3,11	0,60
6	1044	1044		(E)- β -ocimeno	2,09	0,08	1,80	0,04	1,10	0,42	10,67	2,25
7	1098	1095		linalool	0,92	0,07	0,57	0,12	-	-	-	-
8	1177	1174		terpinen-4-ol	-	-	0,31	0,07	-	-	-	-
9	1192	1186		α -terpineol	-	-	0,33	0,10	-	-	-	-
10	1332	1335		δ -elemeno	0,38	0,02	0,31	0,03	0,13	0,12	0,57	0,01
11	1343	1348		α -cubebeno	0,55	0,07	0,48	0,08	0,71	0,04	0,89	0,07
12	1371	1373		α -ylangeno	1,95	0,20	2,13	0,21	0,24	0,04	5,53	0,32
13	1372	1374		α -copaeno	-	-	-	-	2,39	0,06	-	-
14	1384	1387		β -cubebeno	0,70	0,05	0,73	0,13	0,73	0,02	2,58	0,13
15	1386	1389		β -elemeno	0,60	0,16	0,43	0,09	0,51	0,02	0,60	0,07
16	1402	1409		α -gurjuneno	-	-	-	-	0,32	0,02	-	-
17	1414	1417		(E)-cariofileno	10,79	1,19	11,82	1,69	8,55	0,16	13,85	1,10
18	1425	1430		β -copaeno	0,44	0,04	0,51	0,07	0,82	0,05	0,56	0,05
19	1429	1432		α -trans-bergamoteno	0,32	0,06	-	-	0,63	0,06	-	-
20	1433	1439		aromadendreno	1,17	0,08	1,58	0,11	2,27	0,07	0,74	0,06
21	1444	1451		trans-muurola-3,5-dieno	-	-	0,41	0,15	-	-	0,32	0,02
22	1445	1452		α -humuleno	1,81	0,11	2,00	0,09	1,78	0,03	1,45	0,13
23	1450	1458		allo-aromadendreno	0,38	0,12	0,43	0,04	0,63	0,02	0,22	0,02
24	1466	1475		γ -gurjuneno	-	-	-	-	1,21	0,03	-	-
25	1468	1471		dauca-5,8-dieno	-	-	-	-	-	-	0,52	0,41
26	1469	1476		β -chamigreno	2,44	0,10	1,65	0,24	-	-	-	-

TABELA 10 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper fuliginum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(continua)

<i>Piper fuliginum</i>			chuvoso				seco			
			dezembro	fevereiro	maio	agosto				
27	1470	1478	1,11	0,10	8,61	0,49	1,77	0,21	-	-
28	1471	1475	-	-	-	-	-	-	0,39	0,29
29	1472	1479	0,50	0,10	-	-	-	-	-	-
30	1475	1480	8,77	0,46	5,36	0,42	13,48	0,21	10,04	0,35
31	1483	1489	7,00	0,37	1,49	0,28	4,00	0,14	3,32	0,33
32	1486	1493	1,18	0,36	-	-	0,74	0,03	0,53	0,09
33	1490	1500	15,80	1,61	11,04	0,58	14,82	0,30	8,97	0,65
34	1494	1500	0,97	0,14	1,18	0,12	1,09	0,06	1,35	0,13
35	1502	1505	2,23	0,06	1,14	0,19	-	-	-	-
36	1507	1513	0,55	0,16	0,77	0,09	1,09	0,11	0,42	0,03
37	1514	1522	4,80	0,45	3,25	0,07	3,40	0,20	3,10	0,25
38	1527	1533	-	-	-	-	-	-	0,27	0,05
39	1552	1559	2,85	0,38	0,50	0,09	0,59	0,06	-	-
40	1558	1561	3,16	0,18	2,53	0,12	-	-	-	-
41	1570	1577	1,53	0,09	5,13	0,38	9,69	0,24	1,02	0,29
42	1575	1582	0,54	0,08	1,78	0,10	1,68	0,05	1,59	0,33
43	1587	1590	0,72	0,08	0,98	0,51	2,43	0,08	0,26	0,05
44	1591	1595	-	-	-	-	0,69	0,17	-	-
45	1621	1627	-	-	1,05	0,06	-	-	1,05	0,30
46	1626	1630	-	-	0,67	0,35	-	-	-	-
47	1636	1638	1,55	0,27	0,85	0,05	1,05	0,03	0,69	0,13

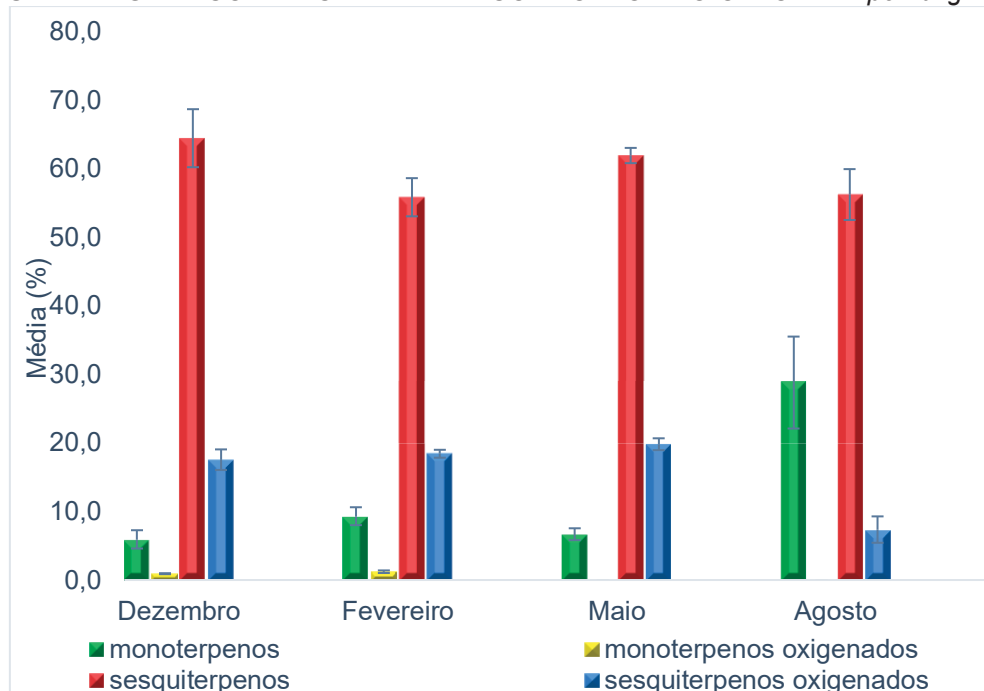
TABELA 11 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper fuliginum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(conclusão)

<i>Piper fuliginum</i>		chuvoso				seco			
		dezembro	fevereiro	maio	agosto	dezembro	fevereiro	maio	agosto
48	1637	1640	0,43	0,13	0,54	0,18	-	-	-
49	1640	1644	-	-	0,36	0,18	0,26	0,04	0,16
50	1649	1652	-	-	0,81	0,12	1,21	0,20	0,73
51	1651	1658	6,76	1,55	3,72	0,41	2,79	0,29	1,86
Total Identificado (%)			88,84	84,76	88,38	92,37			
aÍndice aritmético calculado. bÍndice aritmético da literatura (ADAMS, 2017). % - Média da triplicata. DP – Desvio Padrão. Compostos não detectados representados por (-).									
Classe		Dezembro	Fevereiro	Maio	Agosto				
monoterpenos		5,93	9,31	6,68	28,80				
monoterpenos oxigenados		0,92	1,21	0,00	0,00				
sesquiterpenos		64,44	55,83	61,91	56,22				
sesquiterpenos oxigenados		17,54	18,41	19,80	7,35				

Pode-se verificar no gráfico (FIGURA 14) que as classes predominantes encontradas no óleo essencial da *P. fuliginum* são os sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados, e a ausência de arilpropanoides em todos os meses. Os perfis das composições dos óleos nos meses de dezembro e fevereiro são muito semelhantes, sendo os dois constituídos principalmente por sesquiterpenos, seguido de sesquiterpenos oxigenados e monoterpênos.

FIGURA 14 - GRÁFICO DAS CLASSES DE COMPOSTOS DO ÓLEO DE *Piper fuliginum*.



Na classe de monoterpênos é possível observar que há um padrão cíclico, tendo o seu valor mínimo em dezembro (5,93%), aumenta no mês de fevereiro (9,31%), há uma decaída no mês de maio (6,68%), obtendo seu valor máximo em agosto (28,80%). Os monoterpênos oxigenados foram observados apenas nos meses de dezembro e fevereiro, nos quais tiveram suas temperaturas médias máximas (26 °C), como pode ser visto na TABELA 2.

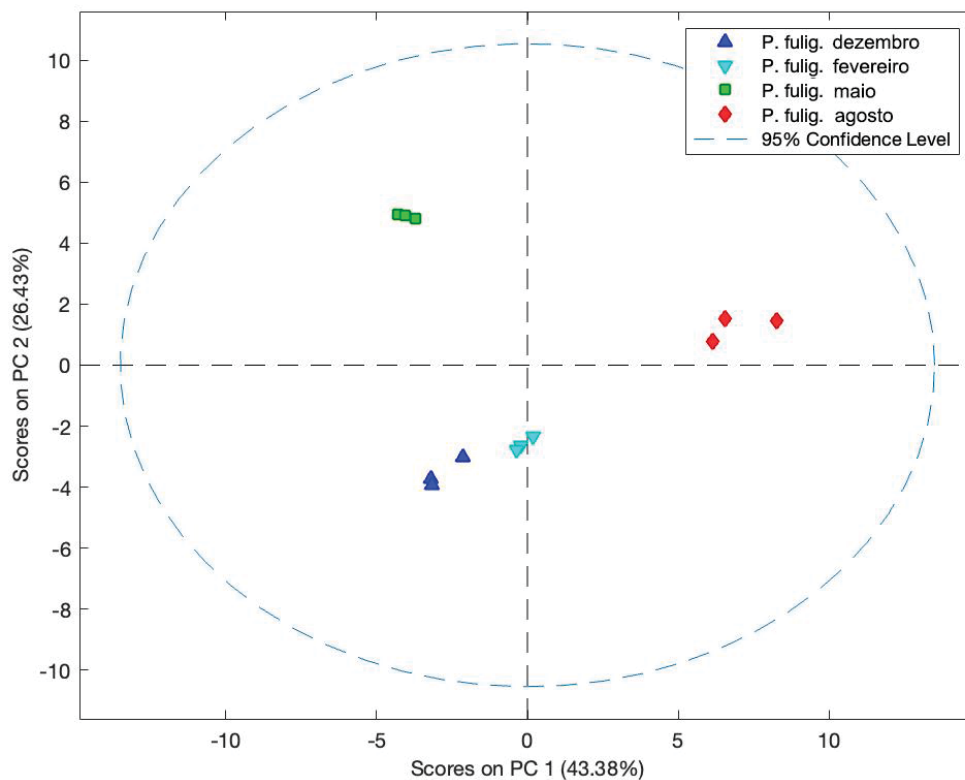
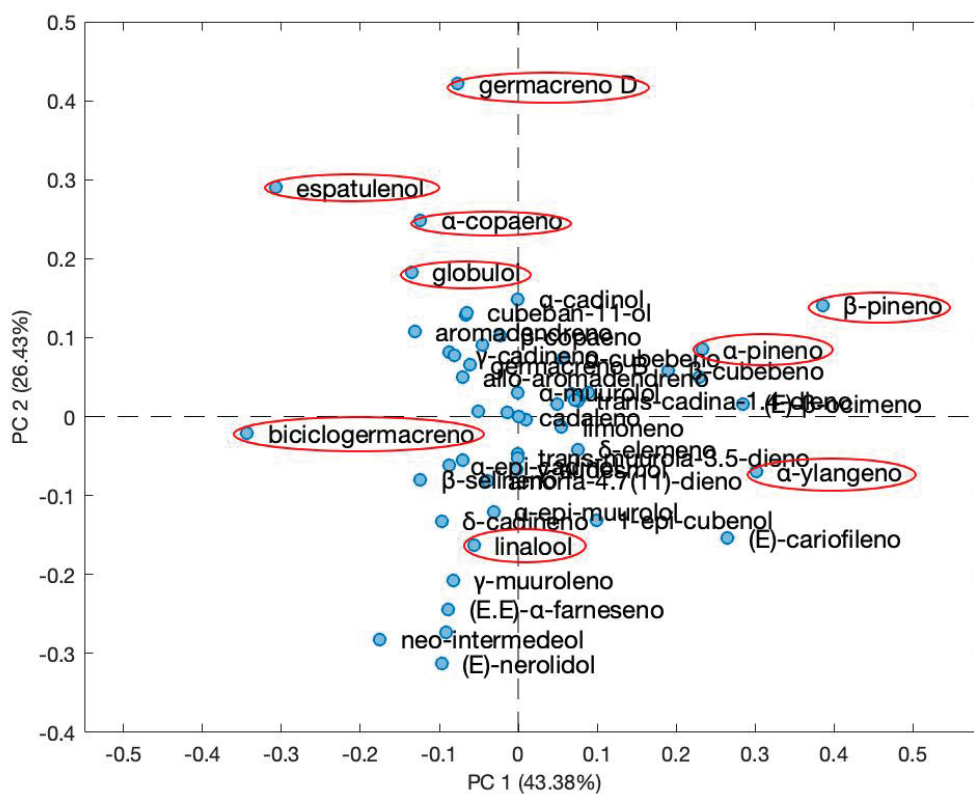
A classe de sesquiterpenos também apresenta um padrão cíclico, porém seu valor máximo é obtido no mês de dezembro (64,44%), decaindo em fevereiro (55,83%), tendo um aumento no mês de maio (61,91%) e por fim, caindo novamente no mês de agosto (56,22%). Entende-se que provavelmente a questão hídrica e a temperatura não são os fatores determinantes que alteram na proporção desta classe para esta espécie.

Os sesquiterpenos oxigenados possuem um padrão diferente, em que há um crescimento do mês de dezembro (17,54%) para o mês de fevereiro (18,41%) e novamente para o mês de maio (19,80%) atingindo seu valor máximo antes de atingir seu mínimo no mês de agosto (7,35%).

4.4.1 Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade nos óleos essenciais de *Piper fuliginum*

Procurando uma melhor visualização das similaridades e/ou diferenças entre as amostras nos diferentes meses do ano, foi realizado a Análise de Componentes Principais (ACP). Para a análise avaliaram-se os *scores* e os *loadings*, considerando os valores das réplicas para cada mês.

Pelo gráfico de *scores* (FIGURA 15) dos OEs de *P. fuliginum*, notou-se que a Componente Principal 1 (PC1) explica 43,38% e a Componente Principal 2 (PC2) explica 26,43%, totalizando 69,81% da variância dos dados, que ajudaram a elucidar as diferenças e semelhanças entre os óleos extraídos em diferentes meses do ano. Através da PC1, observou-se a diferença do mês de agosto para os demais meses pela variância na composição dos óleos essenciais. E através da PC2 notou-se a distinção do mês de maio para o mês de dezembro.

FIGURA 15 - GRÁFICO DE SCORES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper fuliginum*.FIGURA 16 - GRÁFICO DE LOADINGS CORRESPONDENTE À SAZONALIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper fuliginum*.

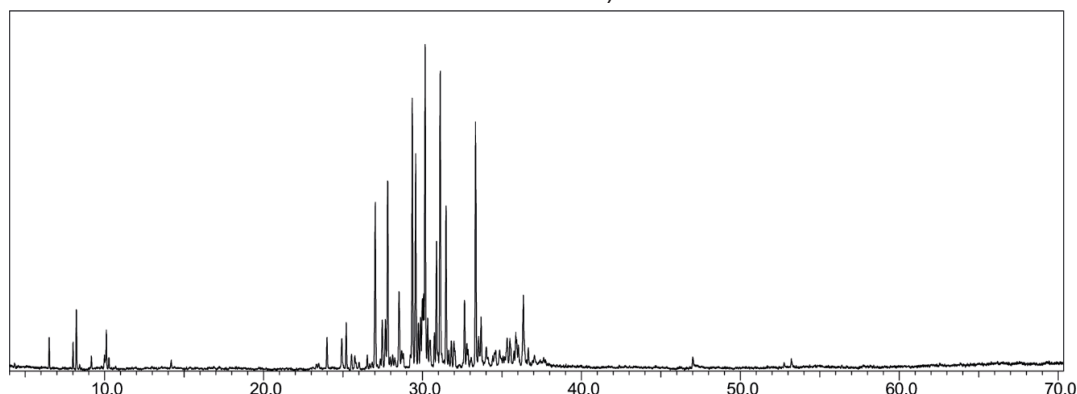
No gráfico de *loadings* (FIGURA 16) pode-se notar que os compostos biciclogermacreno e linalool são responsáveis pela variância no mês de dezembro

se comparado com os demais meses. Para as amostras do mês de fevereiro, é possível observar uma centralização para a PC1, ou seja, não há uma diferença significativa nos compostos presentes no óleo essencial deste mês. Para o mês de maio, os compostos espatulenol, germacreno D, α -copaeno e globulol são os principais responsáveis pela variância. E para o mês de agosto o β -pineno, α -ylangeno e α -pineno são responsáveis pela diferença na composição do óleo essencial.

4.5 ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper hispidum*

Foram identificados 50 compostos no óleo essencial de *P. hispidum* nos quatro meses estudados (TABELA 6), totalizando 86,98% (média) da composição total do óleo. O cromatograma da análise dos OEs do mês de dezembro está na FIGURA 17.

FIGURA 17 - CROMATOGRAMA DA *Piper hispidum* NO MÊS DE DEZEMBRO (ESTAÇÃO CHUVOSA).



O óleo essencial apresentou como compostos majoritários nos 4 meses estudados, o biciclogermacreno (12,09% e 11,87%), germacreno D (9,73% e 8,65%) e γ -muuroleno (8,80% e 8,03%) em maiores concentrações para agosto e maio, respectivamente. O espatulenol estava presente como majoritário em todos os meses analisados, porém em maior teor no mês de fevereiro (8,83%) e dezembro (6,41%) (QUADRO 1).

O sesquiterpeno δ -cadineno foi um dos majoritários nos meses de maio (8,87%) e agosto (8,88%), porém não observou sua presença nos outros dois meses, dezembro e fevereiro. Em maio e agosto, o (*E*)-cariofileno (6,91% e 5,85%) e o aromadendreno (5,26% e 5,87%) apresentaram maiores concentrações. O

sesquiterpeno oxigenado cubenol foi encontrado apenas em maio (2,43%) e agosto (2,32%). E o monoterpeno α -cadinol esteve presente somente no óleo essencial da planta no mês de dezembro (2,70%) e fevereiro (4,77%).

De acordo com Potzernheim et al. (2006), os componentes majoritários encontrados no óleo essencial de *P. hispidum* coletada em Brasília foram: β -pineno (19,70%), α -pineno (9,00%), δ -3-careno (7,40%), α -cadinol (6,90%) e espatulenol (6,20%). Em outro trabalho, (ASSIS et al., 2013), a espécie foi coletada em Ilhéus, na Bahia, e os majoritários foram: γ -cadineno (13,20%), khusimeno (12,10%), β -pineno (12,00%) e ledol (8,80%). Silva et al. (2014), em seu estudo cuja coleta das folhas ocorreu no Pará, observaram a presença de (*E*)-cariofileno (10,50%), α -humuleno (9,50%), δ -3-careno (9,10%), α -copaeno (7,30%) e limoneno (6,90%) como majoritários. Em um estudo mais recente, no Sergipe, Lima et al. (2019) observaram a presença de majoritários como germacreno D (31,00%), δ -3-careno (19,10%), (*E*)-cariofileno (14,90%) e biciclogermacreno (6,20%).

Nos estudos citados acima (com exceção do estudo realizado por Assis et al., (2013) foi observado a ocorrência do monoterpeno δ -3-careno. Neste trabalho, em que a coleta ocorreu no Mato Grosso, esse composto foi encontrado somente no mês de maio e em concentrações muito baixas (0,57%). Na maior parte destes estudos a variabilidade química dessa espécie foi observada em regiões geográficas diferentes, com climas, tipos de solo, entre outros fatores, tornando difícil a distinção com precisão entre os fatores genéticos e ambientais como sendo os causadores na mudança da composição do óleo essencial.

TABELA 12 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper hispidum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(continua)

n°		IA ^a	IA ^b	Composto	<i>Piper hispidum</i>						seco					
					chuvisco			fevereiro			maio			agosto		
					%	DP	%	%	DP	%	%	DP	%	%	DP	%
1	931	932		α -pineno	0,58	0,12	-	-	-	0,45	0,41	0,51	0,32			
2	975	974		β -pineno	0,53	0,05	-	-	-	0,60	0,47	0,36	0,18			
3	981	981		6-metil-5-hepten-2-ona	1,30	0,42	-	-	-	-	-	-	-			
4	1008	1008		δ -3-careno	-	-	-	-	-	0,57	0,46	-	-			
5	1027	1024		limoneno	-	-	-	-	-	0,11	0,11	-	-			
6	1030	1026		1,8-cineole	0,91	0,10	-	-	-	0,54	0,41	1,28	0,57			
7	1343	1348		α -cubebeno	0,73	0,06	0,60	0,15	0,02	0,96	0,02	0,88	0,03			
8	1365	1373		α -ylangeno	1,08	0,02	0,55	0,17	0,06	0,98	0,06	1,19	0,05			
9	1371	1374		α -copaeno	-	-	0,82	0,31	0,03	1,60	0,03	1,59	0,06			
10	1379	1387		β -bourboreno	-	-	-	-	-	0,44	0,01	0,47	0,03			
11	1386	1389		β -elemeno	-	-	-	-	-	0,20	0,02	-	-			
12	1402	1409		α -gurjuneno	-	-	-	-	-	-	-	0,32	0,02			
13	1414	1417		(E)-cariofileno	4,53	0,19	3,48	1,18	0,21	6,91	0,21	5,85	0,08			
14	1424	1430		β -copaeno	1,23	0,03	1,13	0,22	0,01	1,53	0,01	1,35	0,02			
15	1430	1432		α -trans-bergamoteno	1,48	0,09	1,12	0,15	0,02	1,75	0,02	1,80	0,01			
16	1433	1439		aromadendreno	4,71	0,28	3,63	0,79	0,04	5,26	0,04	5,87	0,10			
17	1440	1442		6,9-guaiadieno	-	-	0,38	0,13	0,03	0,19	0,03	0,24	0,02			
18	1450	1452		α -humuleno	2,42	0,09	1,80	0,44	0,06	1,95	0,06	1,91	0,04			
19	1454	1458		allo-aromadendreno	0,65	0,03	0,43	0,15	0,02	0,49	0,02	0,44	0,02			
20	1457	1561		cis-cadina-1(6),4-dieno	0,37	0,07	0,34	0,16	0,02	0,44	0,02	0,36	0,03			
21	1467	1471		dauca-5,8-dieno	0,36	0,03	-	-	-	-	-	-	-			
22	1470	1478		γ -muuroleno	6,96	0,22	5,99	0,87	0,24	8,03	0,24	8,80	0,11			
23	1475	1480		germacreno D	6,33	0,39	7,37	1,33	0,37	8,65	0,37	9,73	0,19			
24	1483	1489		β -selineno	1,47	0,05	1,22	0,26	0,05	1,57	0,05	1,35	0,10			
25	1486	1493		trans-muurola-4(14),5-dieno	1,84	0,08	1,59	0,30	0,06	1,25	0,06	1,22	0,16			
26	1487	1495		γ -amorfenos	1,74	0,15	1,33	0,31	0,01	0,55	0,01	0,71	0,04			

TABELA 13 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper hispidum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(continua)

<i>Piper hispidum</i>			chuvoso				seco				
			dezembro	fevereiro	maio	agosto					
27	1490	1500	biciclogermacreno	9,11	0,45	10,00	1,15	11,87	0,47	12,09	0,18
28	1494	1500	α -muuroleno	1,29	0,07	1,22	0,15	1,27	0,03	1,23	0,03
29	1504	1505	β -bisaboleno	0,80	0,15	0,82	0,09	0,27	0,15	0,47	0,03
30	1508	1511	δ -amorfeno	3,32	0,19	3,01	0,25	3,77	0,10	3,92	0,10
31	1510	1513	γ -cadineno	7,07	0,30	6,81	0,63	0,38	0,04	0,46	0,01
32	1514	1522	δ -cadineno	-	-	-	-	8,87	0,18	8,88	0,11
33	1523	1529	(<i>E</i>)- γ -bisaboleno	4,54	0,32	4,20	0,19	2,42	0,35	3,76	0,02
34	1527	1533	<i>trans</i> -cadinina-1,4-dieno	-	-	0,51	0,12	0,51	0,07	0,56	0,04
35	1531	1537	α -cadineno	0,72	0,07	0,75	0,06	0,81	0,05	0,80	0,02
36	1535	1545	α -calacoreno	0,70	0,15	0,73	0,10	0,73	0,04	0,64	0,00
37	1552	1559	germacreno B	1,83	0,09	2,18	0,12	2,40	0,06	2,03	0,04
38	1558	1561	(<i>E</i>)-nerolidol	0,47	0,04	0,59	0,11	-	-	-	-
39	1559	1564	β -calacoreno	-	-	-	-	-	-	0,41	0,02
40	1570	1577	espatulenol	6,41	0,57	8,83	1,16	6,06	0,70	5,38	0,22
41	1575	1582	óxido cariofileno	0,96	0,07	1,42	0,82	1,10	0,07	0,66	0,02
42	1587	1590	globulol	0,69	0,19	1,34	0,54	1,08	0,11	0,98	0,02
43	1600	1600	rosifoliol	-	-	0,49	0,14	-	-	-	-
44	1602	1608	humuleno epóxido II	0,47	0,08	-	-	-	-	-	-
45	1622	1627	1- <i>epi</i> -cubenol	-	-	-	-	0,58	0,01	0,41	0,10
46	1636	1638	<i>epi</i> - α -cadinol	0,94	0,05	1,33	0,40	0,74	0,14	-	-
47	1638	1640	<i>epi</i> - α -muurolol	0,62	0,08	0,93	0,40	-	-	-	-

TABELA 14 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper hispidum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(conclusão)

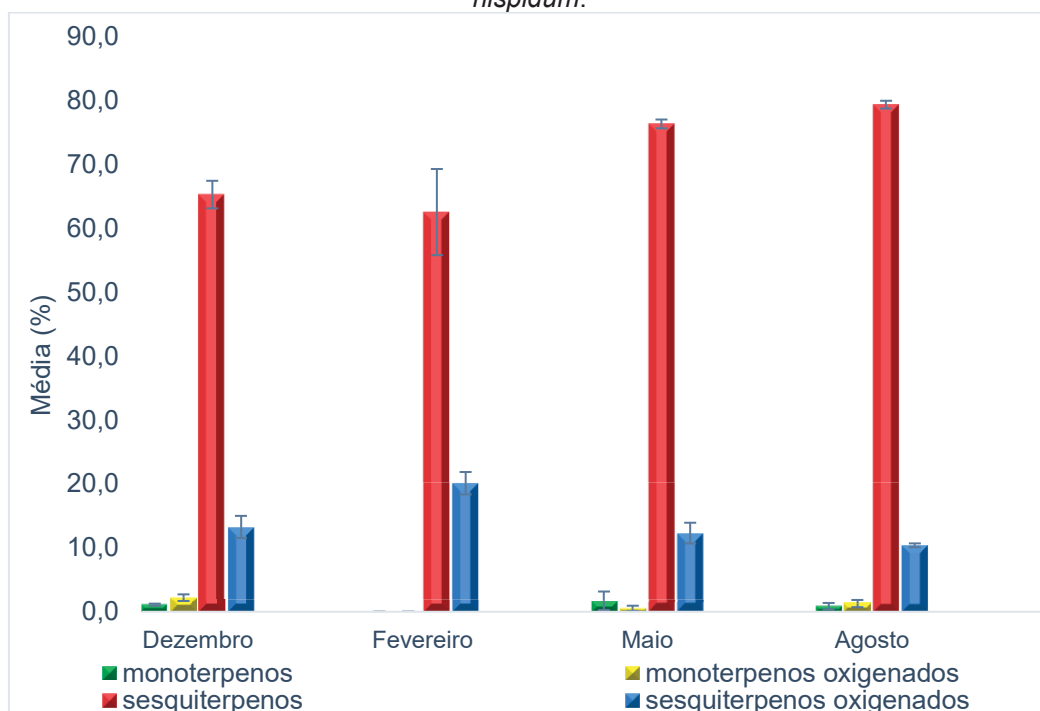
<i>Piper hispidum</i>		chuvoso				seco			
		dezembro	fevereiro	maio	agosto	dezembro	fevereiro	maio	agosto
48	1641 1644	-	-	0,41	0,17	0,32	0,06	0,65	0,04
49	1645 1645	-	-	-	-	2,43	0,84	2,32	0,07
50	1649 1652	2,70	0,79	4,77	0,22	-	-	-	-
Total Identificados (%)		81,86	82,12	90,63	91,88				

^aÍndice aritmético calculado ^bÍndice aritmético da literatura (ADAMS, 2017). % - Média da triplicata. DP – Desvio Padrão. Compostos não detectados - representados por (-).

Classe	Dezembro	Fevereiro	Maio	Agosto
monoterpenos	1,10	0,00	1,72	0,87
monoterpenos oxigenados	2,20	0,00	0,54	1,28
sesquiterpenos	65,26	62,52	76,31	79,32
sesquiterpenos oxigenados	13,26	20,10	12,31	10,40

No gráfico (FIGURA 18) observa-se que os meses analisados são constituídos majoritariamente por sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados. É possível notar que há uma ausência de monoterpenos e monoterpenos oxigenados no mês de fevereiro, porém mesmo nos meses que são encontrados essas classes, os valores são muito baixos.

FIGURA 18 - GRÁFICO DAS CLASSES DE COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper hispidum*.



Na classe de sesquiterpenos pode-se observar um perfil crescente desde o mês dezembro (65,26%) até agosto (79,32%), apresentando uma pequena queda no mês de maio (62,52%). Os sesquiterpenos oxigenados possuem seus valores máximos nos meses de dezembro (13,26%) e fevereiro (20,10%), sendo possível observar através da TABELA 2 que ambos os meses pertencem a estação chuvosa, porém com baixo índice de precipitação, 2,0 e 0,2 mm, respectivamente, e com temperaturas médias de 26 °C.

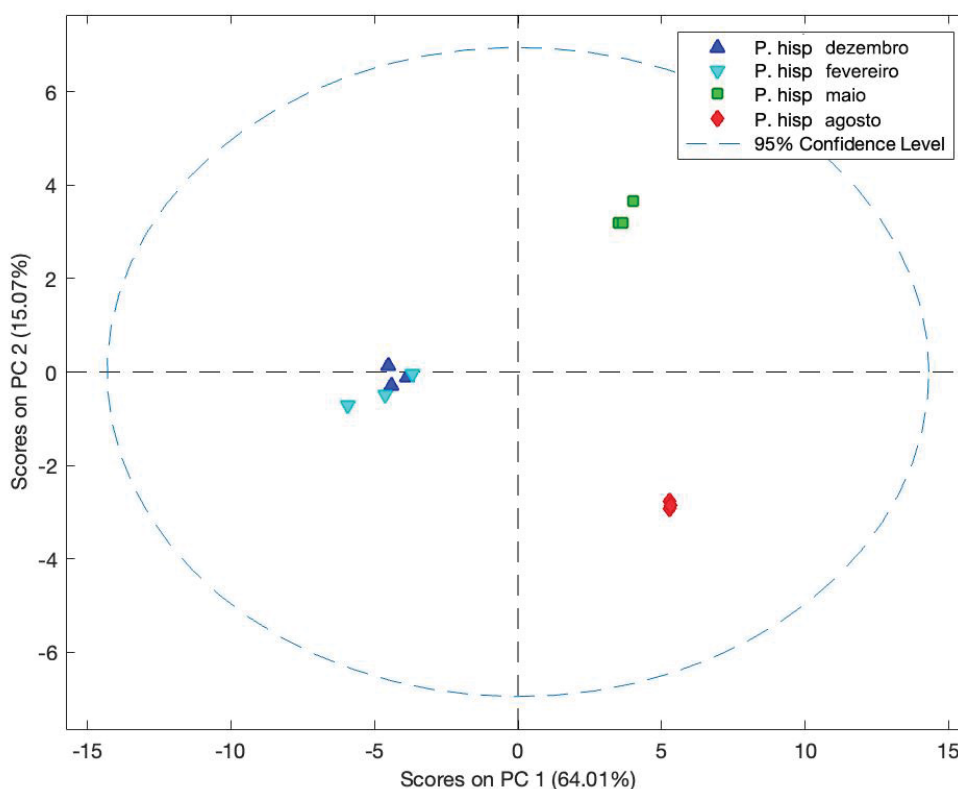
4.5.1 Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade nos óleos essenciais de *Piper hispidum*

Realizou-se a Análise de Componentes Principais (ACP) para uma melhor visualização das semelhanças e/ou diferenças entre as amostras em diferentes

meses do ano. Para a análise avaliaram-se os *scores* e os *loadings*, considerando os valores das réplicas para cada mês, para avaliar as distinções nos óleos essenciais de cada uma das amostras.

No gráfico de *scores* (FIGURA 19) dos OEs das folhas secas de *P. hispidum*, foi observado que a Componente Principal 1 (PC1) explica 64,01% e a Componente Principal 2 (PC2) explica 15,07%, totalizando 79,08% da variância dos dados entre os OEs extraídos em meses alternados durante o ano. No entanto, é possível observar que a diferenciação entre os meses de dezembro e fevereiro não ficou muito evidenciada. Porém houve uma variação nos meses de maio e agosto como pode ser visto na PC2, evidenciando a diferença na composição dos óleos quando comparado com os outros meses.

FIGURA 19 - GRÁFICO DE SCORES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper hispidum*.



Pelo gráfico de *loadings* (FIGURA 20) observou-se que nos meses de dezembro e fevereiro não houve uma diferença significativa, porém os compostos que os diferenciam dos outros meses analisados são γ -cadineno, e espatulenol. Para o mês de maio, (*E*)-cariofileno, δ -cadineno e aromadendreno, e para o mês de agosto germacreno D, (*E*)- γ -bisaboleno e γ -muuroleno foram os responsáveis pela variância dos dados dos óleos voláteis.

As folhas de *P. tuberculatum* foram coletadas nos quatro meses de estudo, sendo possível identificar 40 compostos, totalizando em uma média de 92,92% da composição total. Para o mês de dezembro observou como majoritários os compostos germacreno D (21,42%), β -bisaboleno (9,97%), (*E*)-cariofileno (6,86%) e biciclogermacreno (6,36%) (QUADRO 1).

Em fevereiro foram encontrados o germacreno D (26,76%), espatulenol (8,18%), biciclogermacreno (7,31%) e β -bisaboleno (6,29%). Nos meses de maio e agosto foram identificados como majoritários o limoneno (9,29% e 12,82%) e (*E*)-cariofileno (8,09% e 7,23%), além do germacreno D (23,84% e 26,05%), e biciclogermacreno (7,52% e 7,24%).

Observou a diferença entre a presença de alguns compostos nos diferentes meses do ano analisados como por exemplo α -copaeno que foi identificado apenas nos meses de maio (4,56%) e agosto (4,70%); o δ -cadineno em maio (2,82%) e agosto (2,25%); aromadendreno apenas no mês de maio (1,38%) e o δ -amorfeno nos meses de dezembro (1,86%) e fevereiro (0,66%).

Comparando com os dados descritos na literatura, tem-se a composição do óleo essencial da região do Ceará constituído majoritariamente pelo (*E*)-cariofileno (37,78%) e germacreno D (11,81%) (CYSNE et al., 2005). Lavor et al. (2014) descreveram em seu trabalho como majoritários do óleo essencial, também da região do Ceará, os compostos (*E*)-cariofileno (44,90%), γ -muuroleno (10,30%), α -pineno (7,40%) e β -pineno (7,10%). O estudo realizado por Santos et al. (2016), em Santa Cruz, Rio de Janeiro, mostrou como majoritários o germacreno D (36,30%), isocariofileno (13,20%) e germacreno B (10,20%).

Navickiene et al. (2006) observaram os compostos (*E*)-cariofileno (40,20%), β -pineno (12,50%), α -pineno (10,40%), (*E*)- β -ocimeno (8,60%) e β -farneseno (8,30%) como majoritários nas folhas da *P. tuberculatum* coletadas em Araraquara, São Paulo.

Na maior parte destes estudos a variabilidade química dessa espécie foi observada em regiões geográficas diferentes, com climas, tipos de solo e outros fatores, tornando difícil a distinção com precisão entre os fatores genéticos e ambientais como sendo os causadores na mudança da composição do óleo essencial.

TABELA 15 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper tuberculatum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

Piper tuberculatum													(continua)			
chuvooso													seco			
dezembro				fevereiro				maio				agosto				
n°	IA ^a	IA ^b	Composto	%	DP	%	DP	%	DP	%	DP	%	DP			
1	930	932	α -pineno	3,26	1,07	0,72	0,04	3,25	1,43	4,74	3,34					
2	975	974	β -pineno	4,12	0,57	1,11	0,10	3,44	1,48	5,13	2,96					
3	1027	1024	limoneno	5,10	1,84	2,48	0,49	9,29	3,54	12,82	5,42					
4	1044	1044	(E)- β -ocimeno	0,56	0,15	-	-	-	-	1,79	0,82					
5	1344	1348	α -cubebeno	-	-	-	-	0,54	0,04	0,39	0,04					
6	1371	1373	α -ylangeno	3,15	1,24	3,35	0,33	0,45	0,16	0,24	0,22					
7	1372	1374	α -copaeno	-	-	-	-	4,56	0,14	4,70	0,79					
8	1384	1387	β -bourboreno	0,58	2,27	0,63	0,07	0,77	0,03	0,66	0,09					
9	1385	1389	β -elemeno	1,00	2,58	1,37	0,07	0,93	0,05	1,19	0,38					
10	1414	1417	(E)-cariofileno	6,86	2,26	5,37	0,35	8,09	0,72	7,23	1,16					
11	1422	1430	β -copaeno	-	-	1,02	0,06	1,37	0,14	1,33	0,20					
12	1427	1432	α -trans-bergamoteno	-	-	0,35	0,04	0,62	0,26	0,61	0,06					
13	1432	1437	α -guaieno	-	-	-	-	-	-	0,55	0,01					
14	1433	1439	aromadendreno	-	-	-	-	1,38	0,42	-	-					
15	1450	1452	α -humuleno	4,68	1,53	4,25	0,16	5,27	0,41	5,64	0,96					
16	1454	1458	allo-aromadendreno	1,08	2,83	1,22	0,09	1,20	0,10	1,39	0,26					
17	1457	1461	cis-cadina-1(6),4-dieno	-	-	0,13	0,02	0,13	0,12	-	-					
18	1470	1478	γ -muuroleno	1,75	5,61	2,12	0,08	3,17	0,88	2,25	0,27					
19	1475	1480	germacreno D	21,42	3,23	26,76	0,26	23,84	1,74	26,05	3,84					
20	1479	1489	β -selineno	-	-	1,33	0,06	1,76	0,28	1,22	0,18					
21	1486	1492	δ -selineno	-	-	-	-	0,16	0,16	-	-					
22	1490	1500	biciclogermacreno	6,36	7,32	7,31	0,09	7,52	1,11	7,24	0,94					
23	1493	1500	α -muuroleno	2,43	4,67	1,72	0,07	1,41	0,22	1,53	0,29					
24	1501	1505	(E,E)- α -farneseno	0,72	3,07	0,79	0,04	-	-	-	-					
25	1504	1505	β -bisaboleno	9,97	0,65	6,29	0,07	0,36	0,31	-	-					
26	1506	1508	germacreno A	-	-	-	-	-	-	0,50	0,02					

TABELA 16 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper tuberculatum* NOS 4 MESES ANALISADOS.

(conclusão)

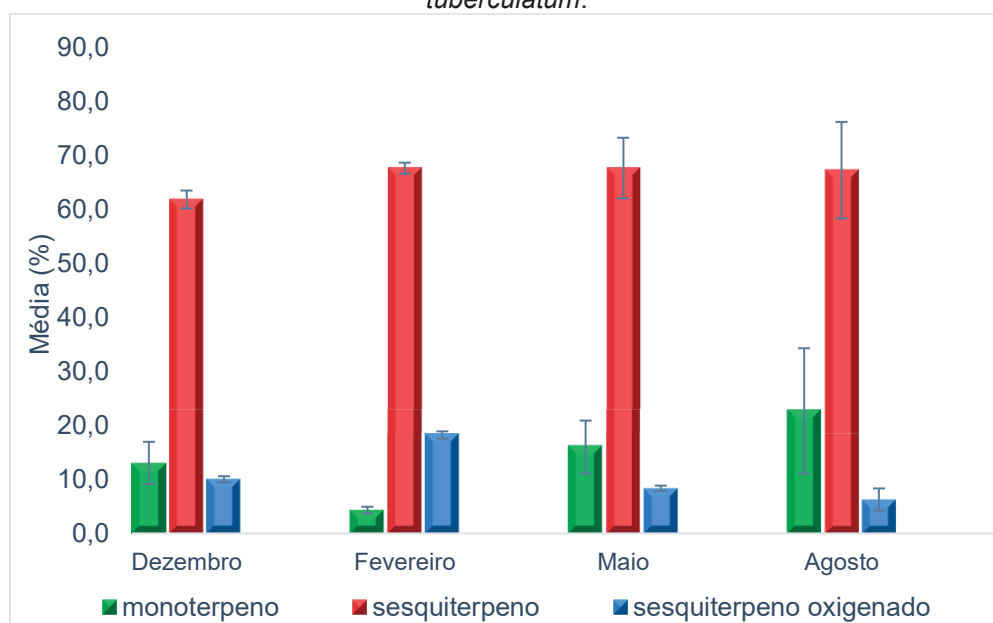
<i>Piper tuberculatum</i>		chuvoso			seco		
		dezembro	fevereiro	maio	agosto		
27	1508	1511	1,86	1,98	0,66	0,03	-
							-
28	1509	1513	-	-	2,99	0,12	1,03
							0,33
29	1510	1514	-	-	-	-	0,37
							0,29
30	1514	1522	-	-	-	-	2,82
							0,74
31	1523	1529	-	-	-	-	0,31
							0,28
32	1539	1546	-	-	0,34	0,02	-
							-
33	1558	1561	2,76	2,18	3,10	0,15	-
							0,61
34	1570	1577	2,93	5,00	8,18	0,42	4,49
							0,60
35	1575	1582	2,23	5,17	2,30	0,05	1,39
							0,07
36	1602	1608	0,94	4,16	1,17	0,05	0,73
							0,08
37	1632	1638	-	-	0,58	0,07	-
							-
38	1633	1640	-	-	0,29	0,01	-
							-
39	1636	1645	-	-	0,38	0,02	-
							-
40	1649	1652	1,18	2,03	1,88	0,33	1,38
							0,23
Total Identificados (%)		84,94	90,19	92,03			96,28

^aÍndice aritmético calculado. ^bÍndice aritmético da literatura (ADAMS, 2017). % - Média da triplicata. DP – Desvio Padrão. Compostos não detectados - representados por (-).

Classe	Dezembro	Fevereiro	Maio	Agosto
monoterpenos	13,04	4,31	15,98	22,69
sesquiterpenos	61,86	67,68	67,70	67,30
sesquiterpenos oxigenados	10,05	18,23	8,36	6,29

No gráfico (FIGURA 22) pode-se notar que os meses que mais se assemelham são: dezembro, maio e agosto, ocorrendo a predominância de sesquiterpenos, seguido de monoterpenos e por fim, sesquiterpenos oxigenados. Já o mês de fevereiro, sua classe majoritária também é sesquiterpenos, porém há uma inversão entre as classes de monoterpenos e sesquiterpenos oxigenados quando comparados aos outros meses estudados.

FIGURA 22 - GRÁFICO DAS CLASSES DE COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper tuberculatum*.



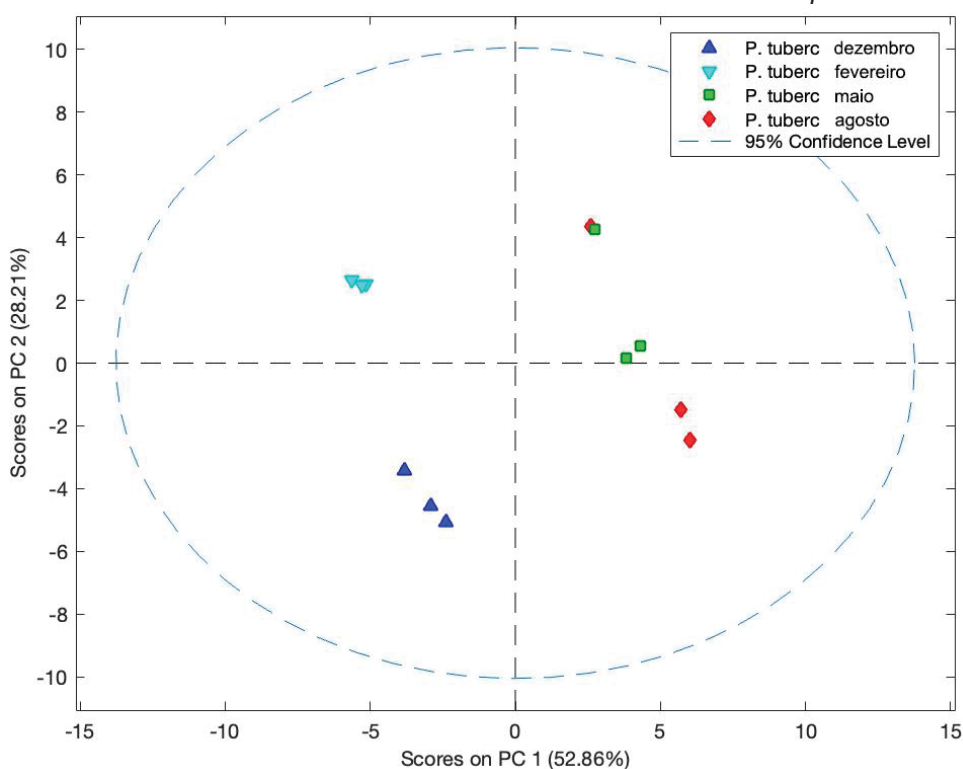
É possível observar que a classe de monoterpenos apresenta um crescimento de dezembro (13,04%) até agosto, apresentando seu valor máximo (22,69%), exceto no mês de fevereiro que houve uma queda (4,31%). Para a classe de sesquiterpenos é possível notar que há um crescimento do mês de dezembro (61,86%) para o mês de fevereiro (67,68%) se mantendo relativamente constante nos outros meses analisados (média de 67,56%).

A classe de sesquiterpenos oxigenados apresentou maiores valores nos meses de dezembro (10,05%) e fevereiro (18,23%). Observa-se pela TABELA 2 que esses são os meses que apresentam maiores temperaturas, sendo ambos os meses da estação chuvosa.

4.6.1 Análise de Componentes Principais do Efeito da Sazonalidade nos óleos essenciais de *Piper tuberculatum*

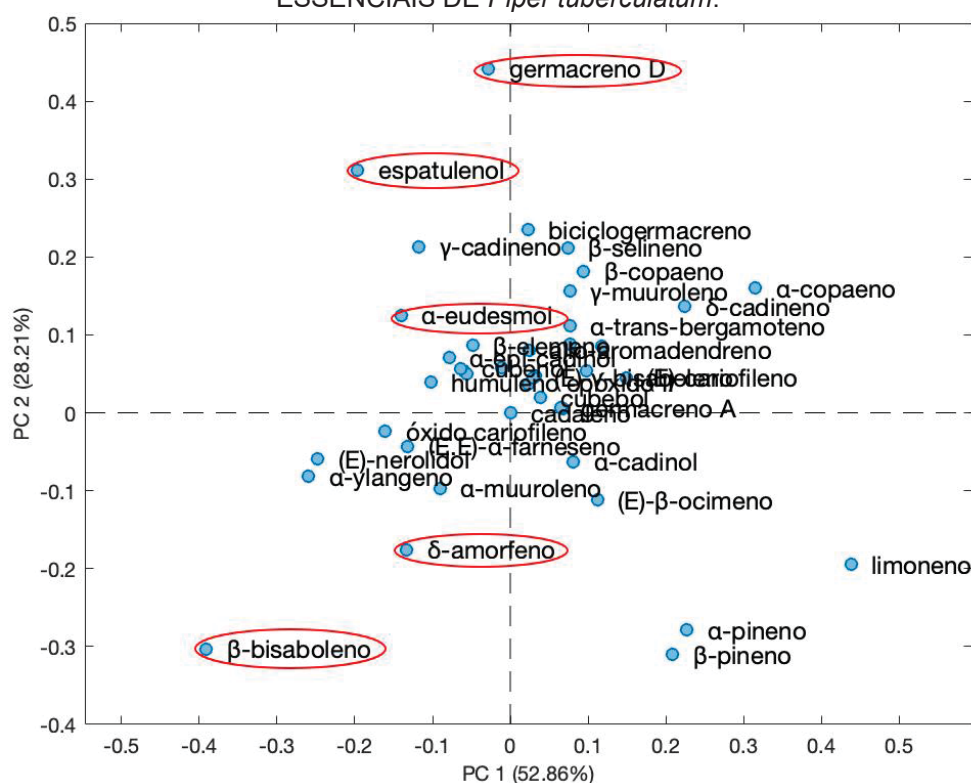
Realizou-se a Análise de Componentes Principais (ACP) para uma melhor visualização das semelhanças e/ou diferenças entre as amostras em diferentes meses do ano. Para a análise avaliaram-se os *scores* e os *loadings*, considerando os valores das réplicas para cada mês, para avaliar as distinções nos óleos essenciais de cada uma das amostras.

FIGURA 23 - GRÁFICO DE SCORES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper tuberculatum*.



No gráfico de *scores* (FIGURA 23) dos OEs das folhas da *P. tuberculatum*, observou-se que a Componente Principal 1 (PC1) explica 52,86% e a Componente Principal 2 (PC2) explica 28,21% totalizando 81,07% da variância dos dados, que auxiliaram para evidenciar as diferenças de composição dos óleos essenciais extraídos em amostras de diferentes meses do ano.

FIGURA 24 - GRÁFICO DE LOADINGS CORRESPONDENTE À SAZONALIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper tuberculatum*.



Pelo gráfico de *loadings* (FIGURA 24) pode-se observar que para o mês de dezembro os compostos δ -amorfeno, β -bisaboleno e α -ylangeno foram responsáveis pela variação na composição dos óleos. Para o mês de fevereiro os compostos responsáveis pela diferenciação na composição do óleo foram espatulenol, germacreno D e α -eudesmol. Para os meses de maio e agosto não pode ser discutido com muita profundidade devido a uma das réplicas de agosto estar junto com as réplicas do mês de maio. Uma possível razão para esse problema é um erro de extração ou problema na hora da análise cromatográfica.

4.7 ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PARA TESTE COM *Drosophila suzukii*

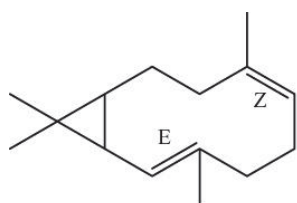
Os bioensaios (oviposição e tóxico) com a *D. suzukii* foram feitos com os pools das seis espécies de *Piper*: *P. arboreum*, *P. aff. divaricatum*, *P. fuligineum*, *P. hispidum*, *P. mikanianum* e *P. rivinoides*, no qual as quatro primeiras espécies são as mesmas do estudo de sazonalidade (item 4.2 a 4.5). A *P. tuberculatum* não foi empregada para os testes biológicos com a *D. suzukii* em razão de que seu rendimento é muito baixo. A *P. mikanianum* e *P. rivinoides* foram adicionados no estudo contra a *Drosophila* visto que as duas espécies apresentaram resultados

promissores em outros testes biológicos realizados em outras pesquisas em nosso grupo de laboratório (Laboratório de Produtos Naturais e Ecologia Química - LAPNEQ). Foi realizada a identificação dos principais constituintes presentes nos óleos essenciais de folhas secas das seis espécies de *Piper* (TABELA 8).

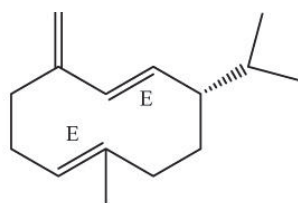
Para *P. arboreum*, foram encontrados 39 constituintes, totalizando 82,57% da composição total do óleo. Como compostos majoritários tem-se o biciclogermacreno (15,73%), germacreno D (9,19%) e (*E*)-cariofileno (8,70%). Para *P. aff. divaricatum* foram identificados 37 compostos caracterizando 85,40% da composição total. Observou como majoritários os compostos germacreno D (21,09%), miristicina (16,78%) e α -pineno (6,22%). Para *P. fuligineum* foram identificados 36 constituintes, correspondendo a 76,75% do óleo volátil. Os majoritários são *neo*-intermedeol (13,64%), δ -selineno (6,59%) e (*E*)-cariofileno (6,29%).

A *P. hispidum* teve um total de 44 compostos identificados que correspondem a 83,73% da composição total do óleo. Os majoritários foram os compostos biciclogermacreno (14,37%), germacreno D (14,21%) e δ -cadineno (5,67%). Para a *P. rivinoides* obteve-se a identificação de 17 compostos, num total de 95,50% do óleo, com os compostos majoritários sendo a elemicina (72,97%) e o α -muuroleno (9,69%). A *P. mikanianum* teve 21 constituintes encontrados em sua composição, totalizando 81,85%, e apresentou os compostos majoritários ciclocolorenona (45,11%) e germacrona (18,63%), ambos sesquiterpenos oxigenados. Na FIGURA 25 é apresentado as estruturas dos compostos majoritários das seis espécies de *Piper*.

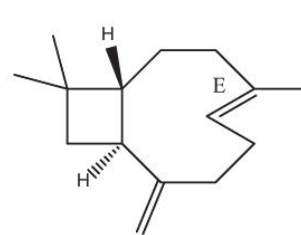
FIGURA 25 - COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS (*POOLS*) DAS SEIS ESPÉCIES DE *Piper*.



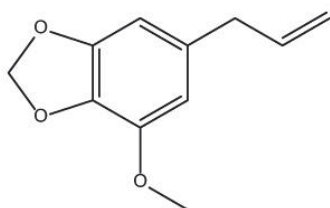
biciclogermacreno



germacreno D



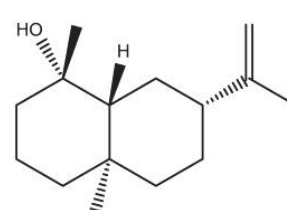
(*E*)-cariofileno



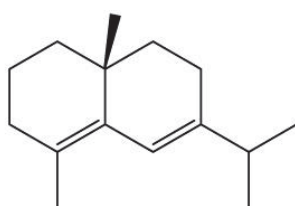
miristicina



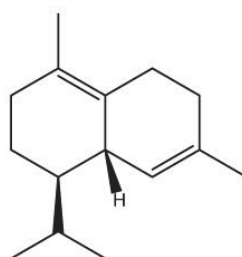
α -pineno



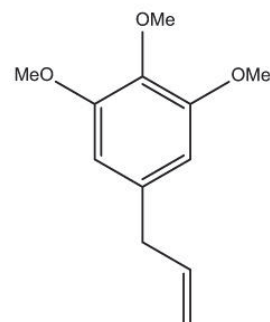
neo-intermedeol



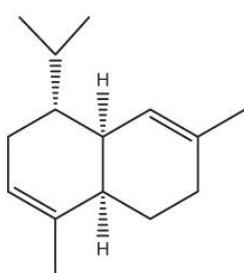
δ -selineno



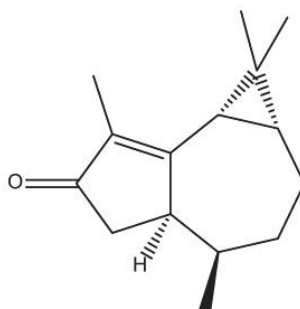
δ -cadineno



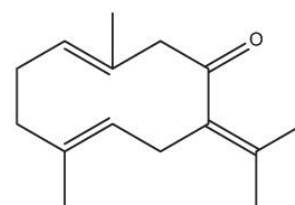
elemicina



α -muuroleno



ciccolorenona



germacrona

FONTE: ADAMS, 2017.

TABELA 17 - COMPOSIÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS (POOL) DE SEIS ESPÉCIES DE *Piper*.

(continua)

Nº	Nome	<i>P. arboreum</i>		<i>P. aff. divaricatum</i>		<i>P. fuliginum</i>		<i>P. hispidum</i>		<i>P. rivinoides</i>		<i>P. mikanianum</i>	
		IA ^a	%	IA ^a	%	IA ^a	%	IA ^a	%	IA ^a	%	IA ^a	%
1	α -tujeno	-	-	924	0,29	-	-	-	-	-	-	-	-
2	α -pineno	931	3,96	931	6,22	931	1,38	931	0,36	931	0,46	934	1,06
3	canfeno	-	-	-	-	-	-	-	-	947	0,33	-	-
4	sabineno	-	-	970	0,20	-	-	-	-	-	-	-	-
5	β -pineno	975	2,40	975	1,29	976	3,73	976	0,29	-	-	-	-
6	6-metil-5-hepten-2-ona	-	-	-	-	-	-	983	0,17	-	-	-	-
7	mirreno	987	0,19	987	0,45	-	-	-	-	-	-	989	0,59
8	α -felandreno	1005	1,92	1005	6,06	-	-	-	-	-	-	-	-
9	δ -3-careno	-	-	1007	0,63	-	-	1008	0,25	1008	0,69	-	-
10	α -terpineno	-	-	-	-	-	-	-	-	1016	0,87	-	-
11	<i>p</i> -cimeno	1023	0,38	1022	0,71	1023	0,27	-	-	1023	0,48	-	-
12	limoneno	1027	1,33	1027	4,03	1028	0,67	-	-	-	-	1030	0,16
13	β -felandreno	-	-	1028	1,49	-	-	-	-	-	-	-	-
14	1,8-cineol	-	-	-	-	-	-	1030	0,6	-	-	-	-
15	(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1034	0,34	1034	0,17	1035	1,15	1034	0,17	-	-	-	-
16	(<i>E</i>)- β -ocimeno	1044	0,19	1044	1,78	1045	2,59	-	-	-	-	-	-
17	γ -terpineno	-	-	-	-	-	-	-	-	1056	1,92	-	-
18	terpinoleno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1086	0,86
19	linalool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1100	0,38
20	δ -elemeno	1332	2,55	-	-	-	-	1333	0,23	-	-	-	-
21	α -cubebeno	-	-	1344	0,65	1344	0,23	1344	0,45	-	-	-	-
22	cicloativeno	-	-	-	-	-	-	-	-	1364	0,75	-	-
23	α -ylangeno	1372	0,78	-	-	1372	1,99	1366	0,59	-	-	-	-
24	α -copaeno	-	-	1371	1,39	-	-	1372	0,80	1372	0,35	-	-
25	β -cubebeno	1384	0,27	1384	0,65	1385	0,85	-	-	-	-	-	-
26	β -elemeno	1386	0,51	1385	0,39	1386	1,22	1386	0,39	-	-	1389	0,41

TABELA 20 - COMPOSIÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS (POOL) DE SEIS ESPÉCIES DE *Piper*.

(conclusão)

N°	Nome	<i>P. arboreum</i>		<i>P. divaricatum</i>		<i>P. fuliginum</i>		<i>P. hispidum</i>		<i>P. rivinoides</i>		<i>P. mikanianum</i>	
		IA ^b	%	IA ^a	%	IA ^a	%	IA ^a	%	IA ^a	%	IA ^a	%
77	α -muurolol	1644	1,24	1642	0,86	1642	0,75	-	-	1642	0,39	-	-
78	α -eudesmol	1652	2,97	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	α -cadinol	1652	-	1649	3,45	-	-	1650	2,29	-	-	-	-
80	selin-11-en-4- α -ol	1658	0,92	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	neo-intermedeol	1658	-	-	-	1652	13,64	-	-	-	-	-	-
82	germacrona	1693	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1693	18,63
83	ciccolorenona	1759	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1753	45,11
Total Identificado (%)			82,57		85,40		76,75		83,73		95,50		81,85

^aÍndice aritmético calculado. ^bÍndice aritmético da literatura (ADAMS, 2017). % - Média da triplicata. DP – Desvio Padrão. Compostos não detectados - representados por (-).

Nas espécies vegetais descritas anteriormente para o estudo de sazonalidade (item 4.2 e 4.5), as espécies de *P. arboreum*, e *P. hispidum* apresentaram os mesmos compostos majoritários, porém em diferentes proporções. Para *P. aff. divaricatum* se observou biciclogermacreno (2,37% - 6,78%) e α -eudesmol (2,16% - 6,00%) e na *P. fuligineum* o biciclogermacreno (8,97% - 15,80%).

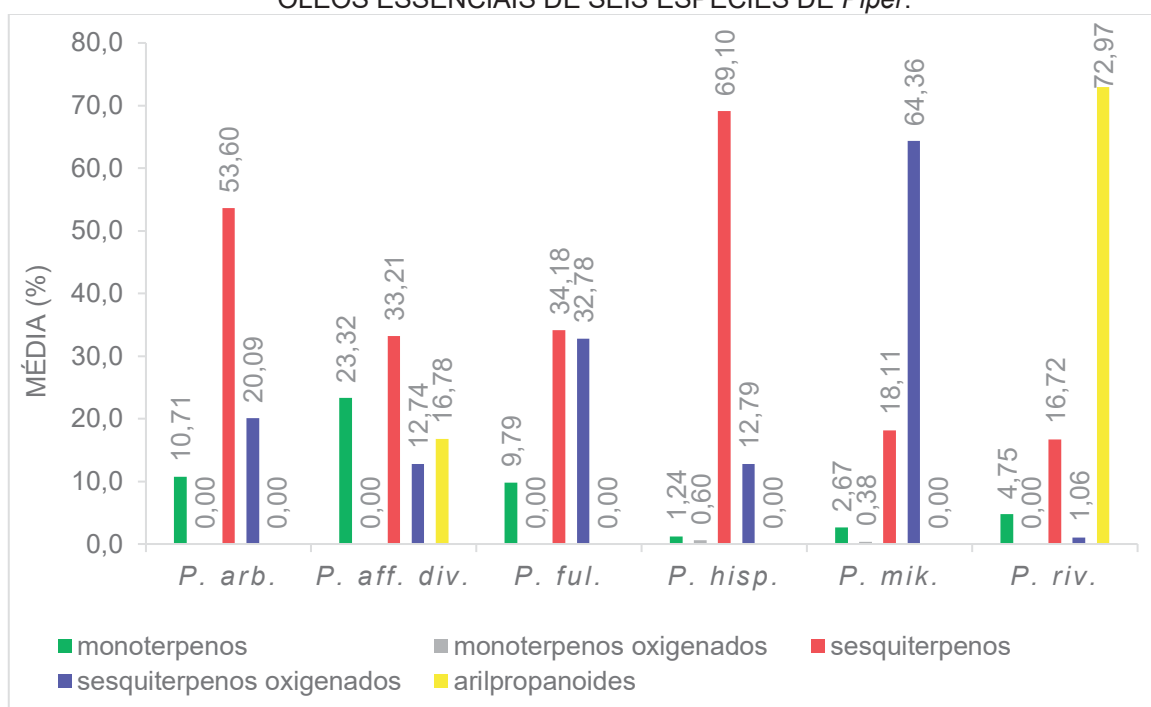
De acordo com Leal et al. (2019), a *P. rivinoides* coletada no município de Guaraqueçaba no Paraná, apresentou como majoritários o composto (*E*)-isoelemecina (40,81%) e δ -3-careno (16,88%). Um estudo realizado por Perigo et al. (2016), feito em Ubatuba, São Paulo, foi observado que os compostos majoritários foram o linalol (4,00%) e biciclogermacreno (3,90%). Já para o óleo essencial neste trabalho, foi identificado elemicina e α -muuroleno como majoritários.

Para *P. mikanianum*, estudos feitos em Atalanta, Santa Catarina, apresentaram safrol (82,00%) como composto majoritário (CARNEIRO et al., 2019). Em outro estudo feito por Krinski et al. (2018), no Paraná, observou como compostos majoritários a elemicina (13,21%), eudesm-7(11)-en-4-ol (26,40%), 4,6-dimetil-5-vinil-1,2-benzodioxido (13,90%) e ciclocolorenona (9,58%). Quando comparado ao estudo de Krinski et al., (2018) com o realizado nesta pesquisa, levando em consideração que o local de coleta é o mesmo, observa-se que os compostos majoritários foram diferentes. Neste trabalho os compostos majoritários foram os sesquiterpenos ciclocolorenona e germacrona, quando compara o estudo de Krinski com o realizado aqui, considerando que o local de coleta é o mesmo, os compostos majoritários foram diferentes. Neste trabalho os compostos majoritários foram a ciclocolorenona (45,11%) e germacrona (18,63%). Uma explicação para esse acontecimento pode estar relacionada a fatores como sazonalidade e local de armazenamento.

No gráfico (FIGURA 26) pode-se observar a comparação entre as classes de compostos presentes nos óleos essenciais das seis espécies trabalhadas. Observa-se a presença de monoterpenos, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados em todos os óleos essenciais, diferindo na proporção de cada um deles. Monoterpenos oxigenados foram encontrados somente na *P. hispidum* (0,60%) e *P. mikanianum* (0,38%), e a classe de arilpropanoides ocorreu em apenas duas espécies: *P. aff. divaricatum* (16,78%) e *P. rivinoides* (72,97%). A rica

diversidade de classes presentes nos óleos essenciais é a razão para o estudo de novas espécies de plantas, por apresentarem inúmeras propriedades biológicas, além da busca por alternativas para a substituição de produtos sintéticos, como fármacos, cosméticos, produtos de limpeza, e inseticidas.

FIGURA 26 - GRÁFICO DE COMPARAÇÃO ENTRE AS CLASSES DE COMPOSTOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE SEIS ESPÉCIES DE *Piper*.



4.8 TESTE DE OVIPOSIÇÃO COM *Drosophila suzukii*

Neste trabalho, foi utilizado óleos essenciais de folhas secas de seis espécies de *Piper* para testes de oviposição contra a praga *D. suzukii*, e foram feitos frutos artificiais como pode ser visto na FIGURA 27.

FIGURA 27 - FRUTOS ARTIFICIAIS PARA O TESTE DE OVIPOSIÇÃO CONTRA *Drosophila suzukii*.



Muito se sabe sobre a propriedade inseticida do gênero *Piper*, devido a presença de terpenos e arilpropanoides. (BASER et al., 2007; KRINSKI et al., 2018). Estudos feitos recentemente mostram um grande potencial dos óleos essenciais para o controle de diferentes pestes (SOUZA et al., 2020). Porém, pouco se sabe sobre a ação de óleos essenciais de espécies de *Piper* em *D. suzukii*.

Observou-se (FIGURA 28) que os óleos que apresentaram os melhores resultados foram *P. mikanianum* (0,00 ovos/fruto), *P. rivinoides* (0,03 ovos/fruto) e *P. aff. divaricatum* (0,27 ovos/fruto). *P. arboreum* (1,57 ovos/fruto) e *P. hispidum* (1,07 ovos/fruto), resultados esses, melhores que do controle (3,13 ovos/fruto). A única espécie que não apresentou um resultado satisfatório foi a *P. fuligineum* (3,23 ovos/fruto), superando o resultado do controle feito com acetona. A FIGURA 29 mostra imagens do ovo depositado no fruto artificial após 24 h da realização do teste de oviposição com a *Drosophila*.

FIGURA 28 - GRÁFICO DO NÚMERO DE OVOS DE *Drosophila suzukii* APÓS O TESTE DE OVIPOSIÇÃO.

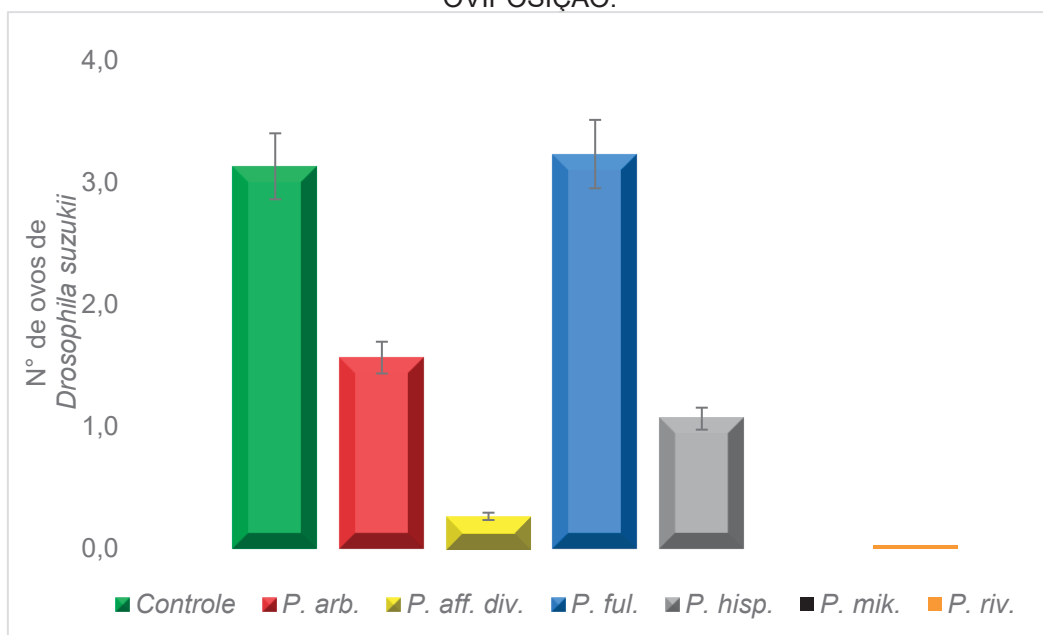
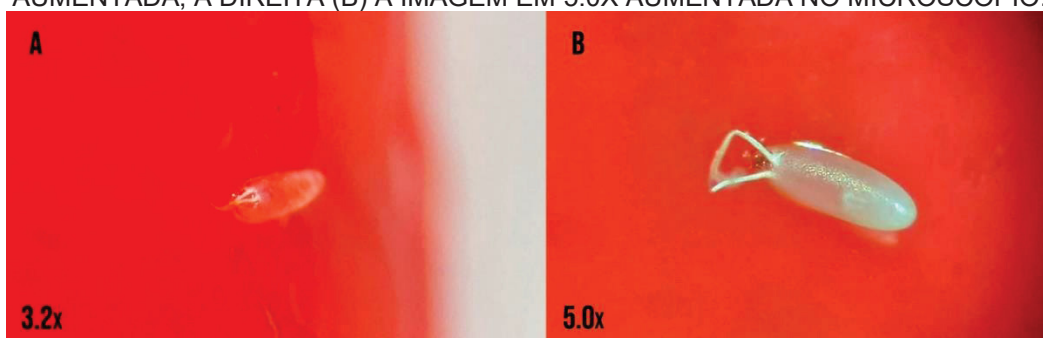


FIGURA 29 - IMAGEM DO OVO DE *Drosophila suzukii*. À ESQUERDA (A) A IMAGEM EM 3.2X AUMENTADA, À DIREITA (B) A IMAGEM EM 5.0X AUMENTADA NO MICROSCÓPIO.



Sabe-se que os arilpropanoides possuem propriedades inseticidas (SOUTO et al., 2012), por exemplo, miristicina é um ótimo inseticida contra *Tribolium castaneum*, praga do arroz (REGNAULT-ROGER et al., 2012). O fato de *P. rivinoides* e *P. aff. divaricatum* terem seus óleos essenciais predominantemente compostos por arilpropanoides (72,97% e 16,78%, respectivamente), os tornam promissores nos testes biológicos de oviposição contra a *D. suzukii*.

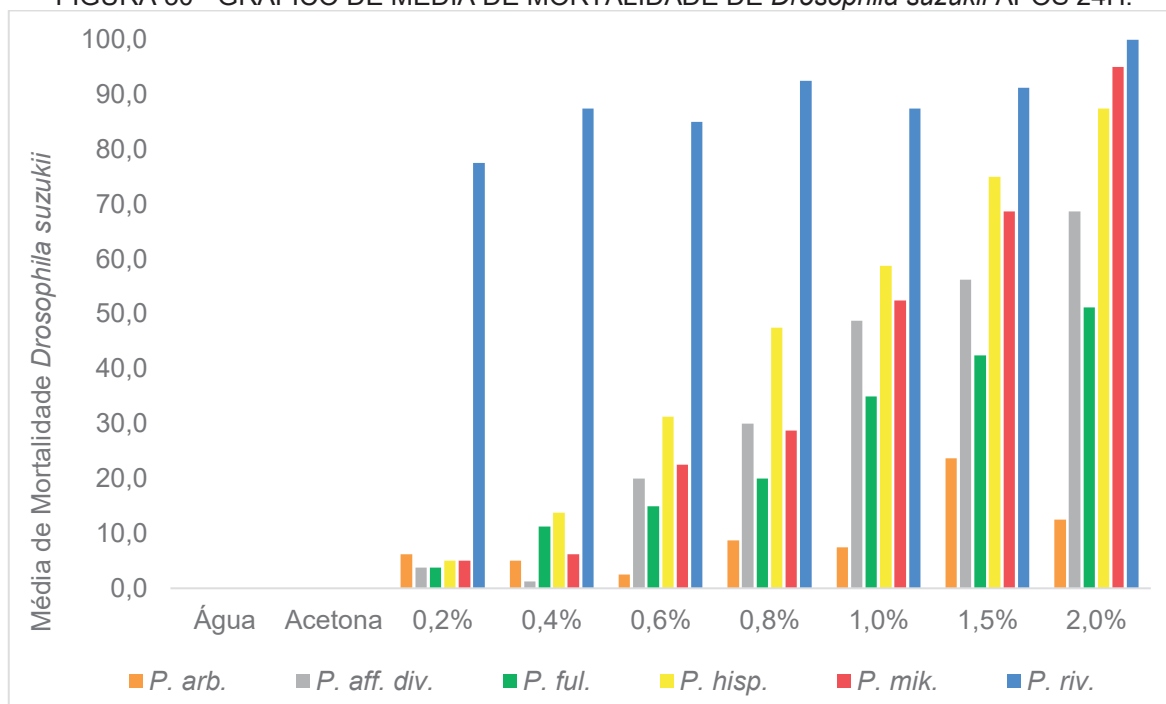
Estudos realizados por Souza (2020a) mostram que sesquiterpenos oxigenados possuem propriedades de repelência e inseticida, colaborando com o resultado da *P. mikanianum*, cujos compostos majoritários são sesquiterpenos oxigenados (64,36%). Em trabalhos publicados na literatura se observou que os compostos (*E*)-cariofileno (DUTRA et al., 2020; FEITOSA-ALCANTARA et al., 2017) e germacreno D (MURUGESAN et al., 2012) têm ações inseticidas, porém

neste trabalho, é possível observar que o (*E*)-cariofileno e o germacreno D estão presentes, como majoritários, na *P. arboreum*, *P. fuligineum* e *P. hispidum* (TABELA 8), e apenas *P. arboreum* e *P. hispidum* apresentaram resultados positivos (FIGURA 28), indicando de que não são esses compostos responsáveis pelo efeito de repelência e inseticida na *D. suzukii*. Uma possível explicação para o resultado positivo de duas dessas três espécies é a sinergia desses sesquiterpenos com constituintes minoritários presentes nos óleos essenciais de cada espécie (LEE, 2018).

4.9 TESTE TÓPICO COM *Drosophila suzukii*

Para o teste tópico realizado com as seis espécies de *Piper* (FIGURA 30), a *P. rivinoides* apresentou o resultado mais promissor, até nas menores concentrações do óleo, obtendo uma taxa de mortalidade de 77,00% para a menor concentração do óleo (0,20%) a 100,00% para a maior concentração (2,00%). Outras duas espécies que apresentaram resultados satisfatórios foram *P. mikanianum* com taxa de 95,00% de mortalidade e *P. hispidum* com percentual de mais de 87,00%, ambas para a concentração de 2,00%. A espécie que obteve pior resultado foi a *P. arboreum* com um pouco mais de 12,00% de mortalidade, em seguida de *P. fuligineum*, com 51,00% e *P. aff. divaricatum* com 69,00%, na concentração mais alta do óleo.

Os valores de referência para a eficácia de inseticidas para a ordem Diptera deve estar entre 80,00 a 100,00%, dando preferência a valores acima de 90,00% (CVMP, 1993). Portanto, apenas *P. rivinoides* e *P. mikanianum* atenderiam os requisitos para inseticidas contra *D. suzukii*.

FIGURA 30 - GRÁFICO DE MÉDIA DE MORTALIDADE DE *Drosophila suzukii* APÓS 24H.

Muitos óleos essenciais são ricos em monoterpenos, e Regnault-Roger et al. (2012) observaram que os monoterpenos são neurotóxicos para insetos, considerando a lipofilicidade e baixo peso molecular dessa classe. Essas propriedades permitem que os monoterpenos penetrem com mais facilidade na membrana celular dos insetos (DUTRA et al., 2020). Em outro estudo, Wernicke et al. (2020) descrevem que monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos apresentam propriedades inseticidas para *D. suzukii*.

As espécies *P. arboreum*, *P. fuligineum* e *P. aff. divaricatum* possuem maiores concentrações de monoterpenos em suas composições (FIGURA 26), e foram as que mostraram piores resultados no teste de contato com *D. suzukii*. Isso revela que compostos minoritários presentes nos óleos voláteis podem influenciar nos testes como antagonistas aos efeitos dos constituintes responsáveis pela atividade inseticida (PEREIRA et al., 2021).

Apesar disso, *P. aff. divaricatum* apresentou um resultado um pouco acima das duas outras espécies devido a presença da miristicina, um arilpropanoide. Sabe-se que arilpropanoides e os sesquiterpenos oxigenados apresentam atividades inseticidas, como foi descrito no item anterior (item 4.8). E os melhores resultados obtidos para esse teste foi com *P. rivinoides*, que apresenta 72,97% de arilpropanoides em sua composição e *P. mikanianum*, com 64,36% de sesquiterpenos oxigenados.

5 CONCLUSÃO

A análise sazonal dos óleos essenciais das cinco espécies de *Piper* revelou seus compostos majoritários, para a *P. arboreum* foram: (E)-cariofileno, germacreno D e biciclogermacreno. A *P. aff. divaricatum* apresentou majoritários como miristicina e germacreno D. Já para *P. fuligineum* foi encontrado: (E)-cariofileno, biciclogermacreno e germacreno D. Os majoritários para a *P. hispidum* foram: biciclogermacreno, espatulenol, γ -muuroleno e germacreno D, e a *P. tuberculatum* foi encontrado majoritários como (E)-cariofileno, germacreno D e biciclogermacreno.

Através da análise sazonal é possível concluir que há uma variabilidade na composição química do OE, porém mais em termos quantitativos do que qualitativos. Em termos de rendimento, *P. hispidum* e *P. arboreum* obtiveram maiores valores, $0,96 \pm 0,24$ (fevereiro) e $0,43 \pm 0,04$ (maio), respectivamente. Já as espécies de *Piper* que apresentaram menores valores de rendimento foram a *P. fuligineum* com $0,05 \pm 0,04$ no mês de dezembro, e a *P. tuberculatum* em todos os quatro meses analisados.

Através deste estudo foi possível observar a variação nos compostos majoritários quando comparados com outras pesquisas já descritas na literatura e que foram realizadas em regiões geográficas diferentes, com climas, tipos de solo e outros fatores bióticos e abióticos, tornando difícil dizer com precisão qual destes fatores que causam a mudança na variabilidade da composição do óleo essencial.

Os testes biológicos de oviposição com a *D. suzukii*, apresentou resultados promissores com as espécies *P. mikanianum* (0,00 ovos/fruto), *P. rivinoides* (0,03 ovos/fruto) e *P. aff. divaricatum* (0,27 ovos/fruto), já a espécie que apresentou pior resultado foi a *P. fuligineum* (3,23 ovos/fruto). Para o teste tópico foi obtido resultados considerados satisfatórios, pela CVMP, apenas para *P. rivinoides* que apresentou 100,00% de taxa de mortalidade e para *P. mikanianum* com uma taxa de 95,00% na concentração máxima (2,00%). O fato dessas espécies terem seus OEs predominantemente compostos por arilpropanoides e sesquiterpenos oxigenados os tornam promissores nos testes biológicos contra a *D. suzukii*.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, F.; KE, Y.; YU, R.; YUE, Y.; AMANULLAH, S.; JAHANGIR, M. M.; FAN, Y. Volatile terpenoids: multiple functions, biosynthesis, modulation and manipulation by genetic engineering. **Planta**, v. 246, p. 803-816, 2017.
- ABDULLAH, N. A.; ZAIN, W. Z. W. M.; HAMID, N. A.; RAMLI, N. W. Essential oil from Piperaceae as a potential for biopesticide agentes: a review. **Food Research**, v. 4, p. 1-10, 2020.
- ADAMS R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4.1 ed. Allured Publishing Corp., Carol Stream, IL, USA, 2017.
- ALMEIDA, J. G. L.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L.; NUNES, E. P. Essential Oil Composition from Leaves and Fruits of *Piper divaricatum* G. Mey. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, p. 228-230, 2009.
- ASHOUR, M.; WINK, M.; GERSHENZON, J. Biochemistry of Terpenoids: Monoterpenes, Sesquiterpenes and Diterpenes. **In Annual Plant Reviews online**, p. 258–303, 2018.
- ASSIS, A.; BRITO, V.; BITTENCOURT, M.; SILVA, L.; OLIVEIRA, F.; OLIVEIRA, R. Essential oils composition of four *Piper* species from Brazil. **The Journal of Essential Oil Research**, p. 203-209, 2013.
- ATASANOV, A. G.; ZATCHEV, S. B.; DIRSCH, V. M.; SUPURAN, C. T. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Reviews**, v. 20, p. 200-217, 2021.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BASER, K. H. C.; DEMIRCI, F. **Chemistry of essential oils**. In: Flavours and Fragrances Chemistry, Bioprocessing and Sustainability. Springer, Berlin, Germany, p. 43-86, 2007.
- BENITO, N. P.; LOPES-DA-SILVA, M.; SANTOS, R. S. S. Potential spread and economic impact of invasive *Drosophila suzukii* in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 571-578, 2016.
- BERNARDI, D.; ANDREAZZA, F.; BOTTON, M.; BARONIO, C.; NAVA, D. Susceptibility and Interactions of *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: drosophilidae) in damaging strawberry. **Neotropical Entomology**, v. 46, p. 1-7, 2016.
- BOUYAHYA, A.; DAKKA, N.; TALBAOUI, A.; ET-TOUYS, A.; EL-BOURY, H.; ABRINI, J.; BAKRI, Y. Correlation between phenological changes, chemical composition and biological activities of the essential oil from Moroccan endemic Oregano (*Origanum compactum* Benth). **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 729-737, 2017.
- BUTNARIU, M.; SARAC, I. Essential Oils from Plants. **Journal of Biotechnology and Biomedical Science**, v. 1, p. 35-43, 2018.
- CALABRIA, G.; MACA, J.; BACHLI, G.; SERRA, L.; PASCUAL, M. First records of the potential pest species *Drosophila suzukii* (Diptera: drosophilidae) in Europe. **Journal of Applied Entomology**, v. 136, p. 139-147, 2010.

CARNEIRO, J. N. P. C.; CRUZ, R. P.; CAMPINA, F. F.; COSTA, M. S.; SANTOS, A. T. L.; SALES, D. L.; BEZERRA, C. F.; SILVA, L. E.; ARAUJO, J. P.; AMARAL, W.; REBELO, R. A.; BEGNINI, I. M.; LIMA L. F.; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B. GC/MS analysis and antimicrobial activity of the *Piper mikanianum* (Kunth) Steud. essential oil. **Food and Chemical Toxicology**, v.135, p. 1-8, 2020.

CHEMAT, F.; ABERT-VIAN, M.; FABIANO-TIXIER, A. S.; STRUBE, J.; UHLENBROCK, L.; GUNJEVIC, V.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 248-263, 2019.

CVMP, 1993. **Demonstration of Efficacy of Ectoparasiticides. Working Party on the Efficacy of Veterinary Medicines III/3682/92-EN**. Commission of the European communities, Brussels.

CYSNE, J.; CANUTO, K. M.; PESSOA, O. D. L.; NUNES, E. P.; SILVEIRA, E. R. Leaf Essential Oils of Four *Piper* Species from the State of Ceará - Northeast of Brazil. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, v. 16, p. 1378-1381, 2005.

DEPRÁ, M.; POPPE, J. L.; SCHMITZ, H. J.; TONI, D. C.; VALENTE, V. L. S. The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in the South American continent. **Journal of Pest Science**, v. 87, p. 379-383, 2014.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products**. 2 ed. - Londres: John Wiley & Son LTD; p. 507, 2001.

DURANT-ARCHIBOLD, A. A.; SANTANA, A. I.; GUPTA, M. P. Ethnomedical uses and pharmacological activities of most prevalent species of genus *Piper* in Panama: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 217, p. 63-82, 2018.

DUTRA, K.; WANDERLEY-TEIXEIRA, W.; GUEDES, C.; CRUZ, G.; NAVARRO, D.; MONTEIRO, A.; AGRA, A.; NETO, C. L.; TEIXEIRA, A. Toxicity of Essential Oils of Leaves of Plants from the Genus *Piper* with Influence on the Nutritional Parameters of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 23, p. 213-229, 2020.

EMILJANOWICZ, L. M.; RYAN, G. D.; LANGILLE, A.; NEWMAN, J. Development, Reproductive Output and Population Growth of the Fruit Fly Pest *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 1392-1398, 2014.

FEITOSA-ALCANTARA, R. B.; BACCI, L.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; SILVA, I. M. A.; SOARES, C. A.; SAMPAIO, T. S.; NOGUEIRA, P. C. L.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Essential Oils of *Hyptis pectinata* Chemotypes: Isolation, Binary Mixtures and Acute Toxicity on Leaf-Cutting Ants. **Molecules**, v. 22, p. 1-13, 2017.

FIGUEIREDO, C. A.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. C.; Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 213-226, 2008.

FRITZ, L. L.; HEINRICHS, E. A.; PANDOLFO, M.; SALLES, S. M.; OLIVEIRA, J. V.; FIUZA, L. M. Agroecossistemas orizícolas irrigados: insetos-praga, inimigos naturais e manejo integrado. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, p. 720-732, 2008.

GUIMARAES, E. F.; MONTEIRO, D. Piperaceae na reserva biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v.57, p.569-589, 2006.

GUIMARÃES, E.F.; CARVALHO-SILVA, M.; MEDEIROS, E.V.S.S.; MONTEIRO, D.; QUEIROZ, G.A.; Marcusso, G.M. Piperaceae in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB190>>. Acesso em: 3 maio de 2024.

HAUSER, M. A historic account of the invasion of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the continental United States, with remarks on their identification. **Pest Management Science**, v. 67, p. 1352-1357, 2011.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential Oils in Food Preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 1-24, 2012.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em <<https://portal.inmet.gov.br/>> Acesso em 20 de dezembro de 2023.

ISMAN, M. B. Botanical Insecticides in the Twenty-First Century—Fulfilling Their Promise? **Annual Review of Entomology**, v. 65, p. 233-249, 2020.

JEMÂA, J. M. B.; HAOUEL, S.; BOUAZIZ, M.; KHOUJA, M. L. Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five Eucalyptus essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. **Journal of Stored Products Research**, v.48, p. 61-67, 2012.

KATO, M. J.; FURLAN, M. Chemistry and evolution of the Piperaceae. **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, p. 529-538, 2007.

KRINSKI, D.; FOERSTER, L. A.; DESCHAMPS, C. Ovicidal effect of the essential oils from 18 Brazilian *Piper* species: controlling *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera, Erebidiae) at the initial stage of development. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 40, p. 1-10, 2018.

LAVAGNINO, N. J.; DIAZ, B. M.; CICHON, L. I.; DE LA VEGA, G. J.; GARRIDO, S. A.; LAGO, J. D.; FANARA, J. J. New records of the invasive pest *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the South American continent. **Revista de La Sociedad Entomológica Argentina**, v. 77, p. 27-31, 2018.

LAVOR, P. L.; SANTIAGO, G. M. P.; GOIS, R. W. S.; SOUSA, L. M.; BEZERRA, G. P.; ROMERO, N. R.; ARRIAGA, A. M. C.; LEMOS, T. G.; ALVES, P. B.; GOMES, P. C. S. Larvicidal Activity against *Aedes aegypti* of Essential Oils from Northeast Brazil. **Natural Product Communications**, p. 1391-1392, 2014.

LEAL, A. L. A. B.; MACHADO, A. J. T.; BEZERRA, C. F.; INACIO, C. E. S.; ROCHA, J. E.; SALES, D. L.; FREITAS, T. S.; ALMEIDA, W. O.; AMARAL, W.; SILVA, L. E.; FERRIANI, A. P.; MAIA, B. H. L. N. S.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; BARRETO, H. M.; COUTINHO, H. D. M. Chemical identification and antimicrobial potential of essential oil of *Piper rivinoides* kunth (BETIS-WHITE). **Food and Chemical Toxicology**, p. 1-5, 2019.

LEE, M. Y. Essential Oils as Repellents against Arthropods. **Hindawi**, p. 1-10, 2018.

LI, Y.; KONG, D. X.; HUANG, R. S.; LIANG, H. L.; XU, C. G.; WU, H. Variations in essential oil yields and compositions of *Cinnamomum cassia* leaves at different developmental stages. **Industrial crops and products**, v. 47, p. 92-101, 2013.

LIMA, R. N.; RIBEIRO, A. S.; SANTIAGO, G. M. P.; COSTA, C. O.; SOARES, M. B.; BEZERRA, D. P.; SHANMUGAM, S.; FREITAS, L. S.; ALVES, P. B. Antitumor and *Aedes*

aegypti Larvicidal Activities of Essential Oils from *Piper klotzschianum*, *P. hipidum* and *P. arboreum*. **Natural Product Communications**, v. 14, p. 1-6, 2019.

LIU, Y.; LI, X.; CHEN, G.; LI, M.; LIU, M.; LIU, D. Epidermal micromorphology and mesophyll structure of *Populus euphratica* heteromorphic leaves at different development stages. **PloS one**, v.10, p.1-16, 2015.

LOAIZA, J. C.; CÉSPEDES, C. L. Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 30, p. 1-17, 2007. MACHADO, B. F. M. T.; JUNIOR, A. F. Óleos Essenciais: Aspectos gerais e usos em Terapias Naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v.3, p. 105-127, 2011.

MORAES, M.; SILVA, T. M. G.; SILVA, R. Circadian variation of essential oil from *Piper marginatum* Jacq. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, p. 270-277, 2014.

MORANDIM-GIANNETTI, A. A.; PIN, A. R.; PIETRO, N. A. S.; OLIVEIRA, H. C.; MENDES-GIANNINI, J. S.; ALECIO, A. C.; KATO, M. J.; OLIVEIRA, J. E.; FURLAN, M. Composition and Antifungal Activity against *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans* of Essential Oils from Leaves of *Piper* and *Peperomia* Species. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 04, p. 1810-1814, 2010.

MORGAN, E. D. Azadirachtin, a scientific gold mine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 4096-4105, 2009.

MURUGESAN, S.; RAJESHKANNAN, C.; BABU, D. S.; SUMATHI, R.; MANIVACHAKAM, P. Identification of Insecticidal Properties in Commom Weed – *Lantana camara* Linn by Gas Chromatography and Mass Spectrum (GC-MS-MS). **Advances in Applied Science Research**, v. 03, p. 2754-2759, 2012.

NASCIMENTO, S. A.; ARAUJO, E. A.; SILVA, J. M.; RAMOS, C. S. Chemical study and antimicrobial activities of *Piper arboreum* (Piperaceae). **Journal of The Chilean Chemical Society**, p. 2837-2839, 2015.

NASARDIN, N.R.M.; HANAFIAH, M. A. M.; ZAINON, M.; IBRAHIM, M.; ZULKEFLE, A. A.; RAHMAN, A. I. A. Comparison of Chemical Compounds of Essential Oils from Natural Agarwood and Inoculated Agarwood (Roselle-Based Inoculation). **Indonesian Journal of Electrical Engineering and Computer Science**, v. 11, p. 677-681, 2018.

NAVICKIENE, H. M. D.; MORANDIM, A. A.; ALECIO, A. C.; REGASINI, L. O.; BERGAMO, D. C. B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A. J.; LOPES, M. N.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M.; MARQUES, M. O. M.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J. Composition and Antifungal Activity of Essential Oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, v. 29, p. 467-470, 2006.

OLIVEIRA, M. S.; CRUZ, J. N.; SILVA, S. G.; COSTA, W. A.; SOUSA, S. H. B.; BEZERRA, F. W. F.; TEIXEIRA, E.; SILVA, N. J. N.; ANDRADE, E. H. A.; NETO, A. M. J. C.; JUNIOR, R. N. C. Phytochemical profile, antioxidant activity, inhibition of acetylcholinesterase and interaction mechanism of the major components of the *Piper divaricatum* essential oil obtained by supercritical CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, p. 74-84, 2019.

PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, D.; PRASAD, A. K.; WENGEL, J.; OLSEN, C. E.; BOLL, P. M. Phytochemistry of the Genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, p. 591-673, 1997.

PELISSARI, G. P.; PIETRO, R. C. L. R.; MOREIRA, R. R. D. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 70-74, 2010.

PEREIRA, R. A.; RAMOS, Y. J.; QUEIROZ, G. A.; GUIMARAES, E. F.; DEFAVERI, A. C. A.; MOREIRA, D. L. Chemodiversity of Essential Oils in *Piper* L. (Piperaceae) Species from Marambaia Island, Rio de Janeiro-RJ, Brazil. **Revista Virtual de Química**, v. 13, p. 1203-1215, 2021.

PERIGO, C. V.; TORRES, R. B.; BERNACCI, L. C.; GUIMARAES, E. F.; HABER, L. L.; FACANALI, R.; VIEIRA, M. A. R.; QUECINI, V.; MARQUES, M. O. M. The chemical composition and antibacterial activity of eleven *Piper* species from distinct rainforest areas in Southeastern Brazil. **Industrial Crops and Products**, p. 528-539, 2016.

POTZERNHEIM, M. C. L.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F. Análise dos óleos essenciais de três espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, p. 246-251, 2006.

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; MARTINS, C. B. C.; PELLEGRINO, A. C.; ZARBIN, P. H. G. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, v. 36, p. 1395-1405, 2013.

REGNAULT-ROGER, C.; VICENT, C.; ARNASON, J. T. Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. **The Annual Review of Entomology**, p. 405-424, 2012.

SÁNCHEZ-RAMOS, I.; GOMEZ-CASADO, E.; FERNANDEZ, C. E.; GONZALEZ-NUNEZ, M. Reproductive potential and population increase of *Drosophila suzukii* at constant temperatures. **Entomologia Generalis**, v. 39, p. 103-115, 2019.

SANTOS, P. R. D.; PEREIRA, F. G.; FREITAS, J. C. M.; SANTOS, N. M.; FARINELLE, C. A.; SALLES, J. B.; MEDEIROS, E. V. S. S.; GUIMARAES, E. F.; KAPLAN, M. A. C. Effect of Essential Oil of *Piper tuberculatum* var. *minus* C.DC. Leaves on the Hepatic Microsomal 7-Ethoxyresorufin O-Deethylase (EROD) and 7-Ethoxycoumarin O-Deethylase (ECOD) Activity in Rats. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, p. 329-334, 2016.

SCHLESENER, D. C. H.; WOLMANN, J.; PAZINI, J. B.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, F. R. M. Effects of insecticides on adults and eggs of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 43, p. 208-214, 2017.

SCHLESENER, D. C. H.; WOLMANN, J.; KRUGER, A. P.; NUNES, A. M.; BERNARDI, D.; GARCIA, F. R. M. Biology and fertility life table of *Drosophila suzukii* on artificial diets. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 166, p. 1-5, 2018.

SILVA, J. K. R.; PINTO, L. C.; BURBANO, R. M. R.; MONTENEGRO, R. C.; GUIMARAES, E. F.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Essential oils of Amazon *Piper* species and their cytotoxic, antifungal, antioxidant and anti-cholinesterase activities. **Industrial Crops and Products**, p. 55-60, 2014.

SILVA, J. A.; OLIVEIRA, F. F.; GUEDES, E. S.; BITTENCOURT, M. A. L.; OLIVEIRA, R. A. Atividade antioxidante de *Piper arboreum*, *Piper dilatatum* e *Piper divaricatum*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, p. 700-706, 2014a.

SILVA, J. K. R.; SILVA, J. R. A.; NASCIMENTO, S. B.; LUZ, S. F. M.; MEIRELES, E. N.; ALVES, C. N.; RAMOS, A. R.; MAIA, J. G. Antifungal Activity and Computational Study of

Constituents from *Piper divaricatum* Essential Oil against *Fusarium* Infection in Black Pepper. **Molecules**, p. 17926-17942, 2014b.

SILVA, J. K. R.; SILVA, N. N. S.; SANTANA, J. F. S.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; SETZER, W. N. Phenylpropanoid-rich Essential Oils of *Piper* Species from the Amazon and their Antifungal and Anti-cholinesterase Activities. **Natural Product Communications**, v. 11, p. 1907-1911, 2016.

SILVEIRA, L. C. P.; BUENO, V. H. P.; PIERRE, L. S. R.; MENDES, S. M. Plantas cultivadas e invasoras como habitat para predadores do gênero *Orius* (Wolff) (Heteroptera: Anthocoridae). **Bragantia**, v. 62, p. 261-265, 2003.

SHAHID UD-DAULA, A. F. M.; BASHER, M. A. Genus *Etlingera* - A review on chemical composition and antimicrobial activity of essential oils. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 13, p. 135-156, 2019.

SPEARS, L.; CANNON, C.; ALSTON, D.; DAVIS, R.; STANLEY-STAHN, C.; RAMIREZ, R. **Spotted Wing Drosophila [Drosophila suzukii (Matsumura)]**. Disponível em: <<https://extension.usu.edu/pests/research/spotted-wing-drosophila>>. Acesso em 06 de dezembro de 2023.

SPITALER, U.; BIANCHI, F.; EISENSTEICHEN, D.; CASTELLAN, I.; ANGELI, S.; DORDEVIC, N.; ROBATSCHER, P.; VOGEL, R. F.; KOSCHIER, E. H.; SCHMIDT, S. Yeast species affects feeding and fitness of *Drosophila suzukii* adults. **Journal of Pest Science**, v. 93, p. 1295-1309, 2020.

SOLECKI, R. S. Shanidar, IV, a Neanderthal Flower Burial in Northern Iraq. **Science**, v. 190, p. 880-881, 1975.

SOUTO, R. N. P.; HARADA, A. Y.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Insecticidal Activity of Piper Essential Oils from the Amazon against the Fire Ant *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, p. 510-517, 2012.

SOUZA, M. T.; SOUZA, M. T.; BERNARDI, D.; KRINSKI, D.; MELO, D. J.; OLIVEIRA, D. C.; RAKES, M.; ZARBIN, P. H. G.; MAIA, B. H. L. N. S.; ZAWADNEAK, M. A. C. Chemical composition of essential oils of selected species of *Piper* and their insecticidal activity against *Drosophila suzukii* and *Trichopria anastrephae*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 13056-13065, 2020.

SOUZA, M. T. **Potencial de Óleos Essenciais sobre Drosophila suzukii (DIPTERA: DROSOPHILIDAE) e sua Toxicidade ao Parasitóide Trichopria anastrephae (HYMENOPTERA: DIAPRIIDAE)**. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal do Paraná, 2020a.

SOUZA, M. T.; SOUZA, M. T.; BERNARDI, D.; KRINSKI, D.; MELO, D. J.; OLIVEIRA, D. C.; RAKES, M.; ZAWADNEAK, M. A. C. Insecticidal and oviposition deterrent effects of essential oils of *Baccharis* spp. and histological assessment against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). **Sci Rep**, v. 11, p. 1-15, 2021.

TAKOORE, H.; AUMEERUDDY, M. Z.; RENGASAMY, K. R. R.; VENUGOPALA, K. N.; JEEWON, R.; ZENGIN, G.; MAHOOMODALLY, M. F. A systematic review on black pepper (*Piper nigrum* L.): from folk uses to pharmacological applications. **Food Science and Nutrition**, v. 59, p. 210-243, 2019.

TORRES, G. A. M.; CONSOLI, L. **Expressão Gênica**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/trigo/pre-producao/biotecnologia/expressao-genica>>. Acesso em 10 de dezembro de 2023.

VALLI, M.; SANTOS, R. N.; FIGUEIRA, L. D.; NAKAJIMA, C. H.; CASTRO-GAMBOA, I.; ANDRICOPULO, A. D.; BOLZANI, V. S. Development of a Natural Products Database from the Biodiversity of Brazil. **Journal of Natural Products**, v. 76, p. 439-444, 2013.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 90, p. 763-778, 2018.

VILELA, C. R.; MORI, L. The invasive spotted-wing *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) has been found in the city of São Paulo (Brazil). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, p. 371-375, 2014.

WERNICKE, M.; LETHMAYER, C.; BLUMEL, S. Laboratory trials to Investigate Potential repellent/oviposition Deterrent Effects of Selected Substances on *Drosophila suzukii* Adults. **Bulletin of Insectology**, v. 73, p. 249-255, 2020.

YUAN, H.; MA, Q.; YE, L.; PIAO, G. The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. **Molecules**, v. 21, p. 1-18, 2016.