

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA (ICET)
BACHAREL EM FARMÁCIA

LUANE OLIVEIRA DE SOUZA
ATIVIDADE INSETICIDA, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper callosum* Ruiz & Pav

ITACOATIARA
2019

LUANE OLIVEIRA DE SOUZA

ATIVIDADE INSETICIDA, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Piper callosum* Ruiz & Pav

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado, com o objetivo de
aprovação no curso de Bacharel em
Farmácia, na Instituto de Ciências Exatas
e Tecnologia (ICET)

ORIENTADORA: Renata Takeara Hattori

ITACOATIARA

2019

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S729a Souza, Luane Oliveira de
Atividade Inseticida, Rendimento e Composição Química do óleo
essencial de Piper callosum Ruiz & Pav / Luane Oliveira de Souza.
2019
32 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Renata Takeara
TCC de Graduação (Farmácia) - Universidade Federal do
Amazonas.

1. Piperaceae. 2. óleo essencial. 3. Caruncho-do-feijão. 4. grãos
armazenados. I. Takeara, Renata II. Universidade Federal do
Amazonas III. Título

Dedico este trabalho aos meus pais
André Ronã Santarém de Souza e
Cleames Oliveira de Souza pela
força e apoio aos meus estudos e
pelo incentivo a realização dos
meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradecer a Deus por iluminar meus passos, e ter me dado forças para vencer as dificuldades encontradas pelo caminho.

Aos meus pais e irmão que não mediram esforços para me apoiar durante todas as etapas das quais passei para chegar até aqui.

Agradecer a minha prima Tayana de Oliveira Monteverde, pelo suporte financeiro e apoio aos meus estudos.

Ao companheirismo incondicional de Lucas Farias da Cruz, que esteve ao meu lado durante as fases boas e ruins que passei.

À minha orientadora, pelo suporte, generosidade, amizade e conhecimento adquirido através das correções nesse pouco tempo que lhe coube.

Aos meus colegas de trabalhos, Cristiane Mesquita da Costa e Vanessa Farias dos Santos Ayres, pela ajuda e suporte prestado durante as atividades no laboratório.

À minha parceira de estudo Midiã Rodrigues, pelo amparo nos momentos difíceis que enfrentei.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O presente trabalho tem por objetivo determinar o rendimento e composição química do óleo essencial de *Piper callosum* e avaliar sua atividade inseticida contra o *Z. subfasciatus*. A coleta do material botânico foi realizada em março, no Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET/UFAM), na cidade de Itacoatiara (AM). Através de hidrodestilação, utilizando aparelho de Clevenger foram obtidos dois óleos com densidades diferentes em relação a água. O óleo menos denso (OE1P4) teve rendimento de 0,18%, e o óleo mais denso (OE2P4) teve rendimento de 16%. As amostras de óleos foram submetidas à análise em CG-EM em equipamento SHIMADZU acoplado a um espectrômetro de massas SHIMADZU QP2010, e então feita a identificação das substâncias. Os compostos majoritários encontrados foram safrol (47,16%), β – pineno (10,72%), e metil-eugenol (7,41%) no óleo essencial menos denso. E safrol (79,26%) e β – pineno (5,73%) no óleo essencial mais denso. Para o bioensaio usaram-se as concentrações 0; 0,002; 0,004; 0,006; 0,008 e 0,01 μ L/L de ar e foram avaliadas em período de 24, 48 e 72 horas de exposição sobre 5 casais de *Z. subfasciatus*. Foi observada mortalidade em 100% dos insetos no período de 48 h de exposição na concentração de 0,01 μ L/L de ar (DL50 de 0,41 μ L/L de ar). Tendo em vista a variedade de substâncias encontradas no óleo de *P. callosum* e sua ação tóxica contra o inseto *Z. subfasciatus*, pode-se considerar um grande promissor a futuros estudos que visam encontrar inseticidas sustentáveis que possam combater pragas de grãos armazenados.

Palavras-chave: Piperaceae, óleo essencial, Caruncho-do-feijão, grãos armazenados.

ABSTRACT

The present work aims to determine the yield and chemical composition of the essential oil of *Piper callosum* and to evaluate its insecticidal activity against *Z. subfasciatus*. The collection of the botanical material was carried out in March at the Institute of Exact Sciences and Technology (ICET / UFAM), in the city of Itacoatiara (AM). By hydrodistillation using Clevenger apparatus two oils with different densities were obtained in relation to water. The less dense oil (OE1P4) had yield of 0.18%, and the denser oil (OE2P4) had 16% yield. The oil samples were submitted to GC-MS analysis on SHIMADZU equipment coupled to a SHIMADZU QP2010 mass spectrometer, and then the identification of the substances was performed. The major compounds found were safrol (47.16%), β - pinene (10.72%), and methyl eugenol (7.41%) in the less dense essential oil. Andsafrole (79.26%) and β - pinene (5.73%) in the most dense essential oil. For the bioassay the concentrations 0; 0.002; 0.004; 0.006; 0.008 and 0.01 $\mu\text{L} / \text{L}$ of air and were evaluated at 24, 48 and 72 hours of exposure on 5 couples of *Z. subfasciatus*. Mortality was observed in 100% of the insects during the 48 h exposure period at the concentration of 0.01 $\mu\text{L} / \text{L}$ of air (LD 50 of 0.41 $\mu\text{L} / \text{L}$ of air). Considering the variety of substances found in the oil of *P. callosum* and its toxic action against the insect *Z. subfasciatus*, it can be considered a great promise for future studies aimed at finding sustainable insecticides that can combat pests of stored grains.

Keywords: Piperaceae, essential oil, beanworm, stored grains.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Piper Callosum..... | 17 |
| Figura 2 - Hidrodestilação em aparelho de Clevenger. | 18 |
| Figura 3 - OE1P4: óleo essencial menos denso; OE2P4: óleo essencial mais denso | 18 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Rendimento de óleo essencial de <i>Piper callosum</i> | 20 |
| Tabela 2 - Composição química do óleo essencial de <i>P. callosum</i> | 21 |
| Tabela 3 - Relação dose versus tempo de exposição..... | 22 |
| Tabela 4 - Atividade fumigante (Porcentagem de mortalidade dos adultos) do óleo essencial de <i>P. callosum</i> contra <i>Z. subfasciatus</i> | 22 |

SUMÁRIO

| | | |
|-----|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 11 |
| 2.1 | Objetivo Geral: | 11 |
| 2.2 | Objetivos Específicos: | 11 |
| 3 | REVISÃO DA LITERATURA..... | 12 |
| 3.1 | Óleos essenciais | 12 |
| 3.2 | Família Piperaceae | 13 |
| 3.3 | Gênero <i>Piper</i> | 13 |
| 3.4 | <i>Piper callosum</i> Ruiz & Pav | 14 |
| 3.5 | Análise da atividade inseticida | 15 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 17 |
| 4.1 | Coleta do material vegetal..... | 17 |
| 4.2 | Extração do óleo essencial. | 17 |
| 4.3 | Identificação dos componentes químicos dos óleos essenciais..... | 19 |
| 4.4 | Análise de Atividade inseticida..... | 19 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 20 |
| 5.1 | Rendimento e composição química do óleo essencial de <i>Piper calosum</i> | 20 |
| 5.2 | Análise de Atividade inseticida..... | 22 |
| 6 | CONCLUSÃO | 24 |
| 7 | REFERÊNCIAS | 25 |

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros óleos essenciais conhecidos foram o de Terebentina (madeira de pinheiro) e resina de mastique (*Pistacia lentiscus*) (BRITO et al., 2013). O seu uso era bastante conhecido por proteger a pele dos egípcios do clima árido. Além de ser usada também nos mortos para evitar a sua rápida decomposição. Nota-se que os antigos egípcios apesar do pouco conhecimento científico já possuíam uma ideia sobre as propriedades assépticas existentes em certos óleos essenciais. (BRITO et al., 2013).

No Brasil, o processo de produção de óleos essenciais começou a alavancar devido não somente aos interesses em substâncias aromáticas presentes, que atenderiam boa parte da demanda dos mercados internacionais, mas sim por sua aplicabilidade no ramo da saúde, agropecuária, cosméticas, entre outras, por suas propriedades terapêuticas, inseticida, fungicida, bactericida. (ANDRADE et al., 2009)

Inseticidas botânicos, em especial, o óleo essencial, tem sido amplamente estudado no controle de pragas em grãos, pois não causam efeito altamente tóxico em aplicadores, não deixam resíduos nocivos nos grãos, e não contribuem para o surgimento de resistência em insetos, como comumente ocorre através do uso de agentes químicos (ALTIERI et al., 2003). Os óleos essenciais, denominados como metabólitos secundários, possuem uma toxicidade reduzida em mamíferos (ISMAN, 2000).

Dentre as plantas de maior interesse, encontram-se as do gênero *Piper* pertencentes à família Piperaceae, que possuem em sua composição química, substâncias com ação inseticida e microbiológica. (TAKEARA, 2017)

Brito et al (2012) mostrou o efeito inseticida de duas espécies de *Piper* sobre o inseto *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae), uma praga comum encontrada em grãos de feijão armazenado e considerou o óleo obtido de *Piper aduncum* com maior efeito inseticida. Além disso, outro estudo revelou ação inseticida de *Piper nigrum* sobre o *Sitophilus oryzae*, também chamado de gorgulho de arroz (CHAUBEY et al, 2011).

Em um estudo, usando diversas espécies de *Piper* incluindo a *Piper callosum*, para avaliar o efeito de toxicidade em formigas de fogo, revelou que esta espécie entre outras possuem um efeito inseticida significativo, uma vez que possuem em

sua composição química, substâncias responsáveis por esse comportamento (SOUTO et al 2012).

A pesquisa de novos agentes inseticidas se faz necessária para o desenvolvimento de novas alternativas eminentes no controle de pragas de grãos armazenados. Há a necessidade de descoberta de substâncias que ao serem usadas não permitam a intoxicação aos aplicadores e que não desprezem resíduos sobre o grão. Agentes naturais, com propriedades inseticidas, vêm sendo estudados como meio de substituição de agentes químicos no controle de pragas (MOSSA, 2016). Nesse sentido, as plantas têm se mostrado uma rica fonte de substâncias com atividade contra diversos insetos em diferentes fases de desenvolvimento.

As pesquisas com espécies da Amazônia podem contribuir substancialmente para apoiar os estudos quimiotaxonômicos de Piperaceae, bem como para a descoberta de novas substâncias com possibilidades terapêuticas e aplicações tecnológicas, tendo em vista a importância dos compostos voláteis presentes na espécie *P. callosum* nativa da região amazônica e do potencial farmacológico apresentado. O estudo com esta planta pode contribuir fornecendo subsídios para o desenvolvimento de novos produtos com ação inseticida

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Avaliar rendimento, composição química e atividade inseticida do óleo essencial das folhas de *Piper callosum* Ruiz e Pav sobre o *Zabrotes subfasciatus*.

2.2 Objetivos Específicos:

- Extrair os constituintes voláteis;
- Caracterizar quimicamente a(s) substância(s) dos óleos essenciais por CG-EM;
- Analisar o efeito fumigante do óleo essencial das folhas de *Piper callosum* sobre o *Z. subfasciatus*

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Óleos essenciais

Os óleos voláteis são princípios odoríferos encontrados em várias partes da planta. São chamados de óleos voláteis, etéreos ou essenciais, uma vez, sujeitos ao ar ou a temperatura ambiente, evaporam com facilidade (ROBBERS, 1997). A denominação do termo “essencial” aos óleos voláteis ocorre porque apresentam componentes odoríferos (SIMÕES, 2017).

Por outro lado, os óleos essenciais são chamados de metabólitos secundários, originados em plantas aromáticas, com a finalidade de proteção à espécie contra diversos parâmetros ambientais, como os raios solares, colonização por microrganismo, herbivoria, entre outros (SIMÕES, 2010). De acordo com Franz (2010), os óleos essenciais são constituídos, basicamente por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides. O autor destaca o quanto diversificado é esse produto pelas inúmeras descobertas de novas substâncias e inéditas atividades biológicas.

Acredita-se que o uso popular dos óleos essenciais se iniciou através dos egípcios e propagou-se pelos romanos e árabes até os dias atuais. O uso era destinado ao combate a maus odores e para proteger a pele do clima quente, evitando a desidratação, além de terem sido usados em processo de embalsamamento nos mortos (BRITO et al., 2013)

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de diversas espécies vem sendo elucidada (CALO et al., 2015; KHALIL et al, 2018; CORREA et al., 2019) e, vários estudos relacionados ao combate de microrganismos patogênicos vêm sendo publicados (ASIAEI et al., 2018; MOSTAFA, 2018; FARIAS et al., 2019), buscando encontrar novas alternativas de fármacos antimicrobianos que possam combater, principalmente, as bactérias que apresentam resistência aos medicamentos, um problema enfrentado na saúde mundial (WILLIAMS & WYNER, 2019). De acordo com Miranda et al (2016), o crescimento das bactérias analisadas em seu estudo, foi inibido pelos óleos essenciais que possuíam maior concentração de monoterpenos, enquanto que, a inibição foi menos satisfatória, quando usados óleos essenciais que apresentavam grande quantidade de sesquiterpenos.

Outros autores, descrevem também óleos essenciais com atividades antioxidante (WANG, 2017), anticonvulsivante (ALMEIDA, 2011), antifúngica (MAIA

et al, 2015) antiparasitária (LE, 2018), além de propriedades anti-espasmódicas (ALI et al, 2015), anti-agregante plaquetário e vasorrelaxante (DIB et al, 2017). Além disso, de acordo com Mossa (2016), os óleos essenciais são tóxicos a uma grande variedade de insetos, possuem penetração rápida, não deixam resíduos tóxicos nos produtos armazenados tratados, e por conter uma variedade de substância química em sua estrutura podem atuar sinergicamente, sendo assim o autor caracteriza-os como fortes promissores a inseticida, principalmente, na agricultura de produtos armazenados, combatendo os inimigos naturais.

Considera-se relevante a busca por novas alternativas inseticidas, como as matérias primas vegetais ricas em safrol (BIZZO, 2009). Espécies pertencentes à família Piperaceae tem mostrado alto teor de safrol, além de outras substâncias na composição química do óleo essencial (NEGREIROS, 2017), apresentando atividade inseticida (KRINSKI e FOERSTER, 2016)

3.2 Família Piperaceae

A família Piperaceae pertence à classe das angiospermas e é subdividida em 5 gêneros, sendo eles *Piper*, *Peperomia*, *Manekia*, *Zippelia* e *Verhuellia* com mais de 3000 espécies (TEBBS, 1993). O Brasil é representado por cerca de 500 espécies distribuídas nos gêneros *Piper*, *Peperomia* e *Manekia* (SAMAIN et al., 2010).

Geralmente são árvores delgadas, comumente finas. Suas folhas variam de 2 mm até 70 cm de comprimento, possuindo formas variadas. Nas espécies de *Piper*, comumente encontra-se inflorescências associadas a folhas. (TEBBS, 1993)

Atualmente a família Piperaceae desperta interesse de pesquisadores, uma vez que apresentam metabólitos com diversas atividades biológicas, principalmente, as espécies pertencentes ao gênero *Piper* (SALEHI et al., 2019). Considera-se uma importante família de plantas medicinais e grande promissor na produção de novos medicamentos (DANIEL, 2016)

3.3 Gênero *Piper*

O gênero apresenta-se como um dos principais da família Piperaceae, possuindo, cerca de 4166 espécies, distribuídas em áreas tropicais (GUIMARÃES, 2009). É extremamente rico em óleos essenciais, com grande variedade de substâncias, dentre eles, os mais vinculados às atividades biológicas são apiol, dilapiol, miristicina, elemicina, eugenol, metileugenol, etilpiperonilcetona e safrol (TORRES-PELAYO et al., 2016). No Brasil, conforme TAKEARA et al. (2017), nas

espécies de *Piper* da Amazônia, se mantêm presentes os sesquiterpenos α -copaeno, (E)-cariofileno e espatulenol em todas as espécies analisadas.

De acordo com Mgbeahuruiker (2017), diversas espécies de *Piper* têm apresentado propriedades biológicas importantes, tais como antimicrobiana, antioxidante, antimalárica e anti-inflamatória. Além disso, mostrou efeito sobre linhagens de células cancerígenas (GIROLA et al., 2015).

Monzote et al (2017) estudou o efeito do óleo essencial de *Piper aduncum* sobre o *Plasmodium falciparum*, causador da malária em seres humanos, e descreveu esta espécie como um promissor agente no combate a protozoários parasitas. Também apresentou atividades antioxidantes tão potentes quanto os compostos químicos usados. (SALEHI et al., 2019)

Dentre as propriedades biológicas das espécies de *Piper*, o efeito inseticida tem despertado interesse de pesquisadores que visam, principalmente, o combate de pragas em produtos alimentícios, como grãos armazenados. (SILVA, 2016; JAIROCE, 2016). De acordo com Melo et al (2011), o uso de plantas com propriedades inseticidas contra pragas de produtos armazenados, em suas palavras, não só é considerado promissor e viável, como ecologicamente correto. Em um estudo realizado por Souto et al (2012) foi revelado que os óleos essenciais de espécies de *Piper* da Amazônia, tais como, *P. aduncum*, *P. marginatum*, *P. divaricatum* e *P. callosum* possuem em sua composição química, substância com propriedades inseticidas.

3.4 *Piper callosum* Ruiz & Pav

Piper callosum é uma espécie de planta terrestre, de porte baixo, rica em óleo essencial. Possui folhas alternadas, em formato elíptico ou ovado-elíptico, com inflorescências associadas (SILVA, 2017). Desenvolve-se melhor em áreas sombreadas com pouca incidência de luz (BATISTA et al., 2012) e pode alcançar aproximadamente 1m de altura (ANDRADE et al., 2009).

Popularmente é conhecido como óleo elétrico, elixir paregórico e ventre livre (ANDRADE et al., 2009). Seu uso tradicional está relacionado ao alívio de desconfortos estomacais (VAN DEN BERG e SILVA, 1986) como diurético, depurativo e com propriedades hemostáticas (SALEHI, 2019).

No estudo químico dos componentes fixos de *P. callosum*, realizado por Facundo et al. (2008), foram isoladas três flavonas, sendo duas pentaoxigenadas e

uma tetraoxigenada. Os flavonóides altamente oxigenados são responsáveis por sua ação contra microrganismos. O composto químico majoritário do seu óleo essencial é o safrol (62,2%), em seguida predominam-se o metileugenol, β -pineno e α -pineno, sendo os três primeiros, substâncias com propriedades inseticidas relatadas na literatura (SOUTO et al., 2012).

3.5 Análise da atividade inseticida

Muitos estudos vêm abordando a preocupação em se obter novas alternativas inseticidas, principalmente no manejo de insetos de grão armazenados (MOSSA, 2016). Chaudhry (2000) relatou a presença de resistência em insetos de produtos armazenados a fosfina (hidreto de fósforo). Dessa forma, Fazolin (2011) discute que as espécies do gênero *Piper* são grandes promissoras a inseticidas, pois possuem em sua composição química substâncias responsáveis por esse efeito. Descreve também que o óleo volátil de *Piper aduncum* é o mais estudado como inseticida, por efeitos positivos no controle de pragas agrícolas.

Rufino & Freitas (2018) detectou a eficiência de extratos de pimenta longa, espécie pertencente ao gênero *Piper*, sobre o *Cryptotermes brevis* Walker (cupim) na região amazônica, evidenciando assim a presença de elementos químicos que combatem insetos. Lima (2009) obteve resultados positivos na determinação de efeito inseticida da espécie *Piper hispidinervum* (C. DC) sobre a lagarta-do-cartucho de milho e observou também o efeito de neurotoxicidade causado.

Foi determinada a ação anti-*Rhizopus oryzae* de óleos essenciais das espécies *P. tuberculatum*, *P. hispidum* e *Piper sp.* na atuação contra células planctônicas, formação de biofilme e *Rhizopus pepsina* demonstrando que esses óleos essenciais são úteis na formulação de estratégias para restringir o crescimento desse inseto (ALMEIDA, 2018)

As propriedades das espécies de *Piper* da Amazônia também foram investigadas. Souto (2012) analisou a ação inseticida de algumas espécies, incluindo entre elas a *Piper callosum* em formigas de fogo *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). Dessa forma, acredita-se que espécies do gênero sejam grandes promissoras no controle de pragas de grãos armazenados, e principalmente espécimes que tem apresentado resistência aos inseticidas químicos, como o *Z. subfasciatus*. (BALDIN E PEREIRA, 2010).

O *Phaseolus vulgaris* L., mais conhecido como feijão, no Brasil é um dos alimentos mais consumidos e produzidos em níveis mundiais (OLIVEIRA *et al.*, 1979). Porém, muitos problemas tem sido enfrentados quanto ao armazenamento desse alimento. Boheman, (1833) expõem em seu estudo que a espécie *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) tem sido origem de preocupações quanto a qualidade desse mantimento.

Fatores negativos mais preocupantes relacionados a infestação por *Zabrotes subfasciatus* são alterações nutricionais, estruturais e de desenvolvimento que podem afetar indiretamente seu custo (FERREIRA, 1960).

Atualmente usa-se inseticidas químicos como a fosfina de hidrogênio, fosfato de alumínio e tetracloreto de carbono (LIMA *et al.*,1983). De acordo com Golob & kilminster (1982) esse tipo de agente químico pode depositar resíduos tóxicos sobre o grão, além de provocar problemas aos aplicadores.

Atualmente, visando amenizar estes riscos, alguns países, incluindo-se o Brasil, têm desenvolvido pesquisas buscando em plantas nativas e/ou exóticas, compostos químicos com potencial para o controle de pragas agrícolas, também conhecidos como inseticidas botânicos (RODRÍGUEZ, 2000)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta do material vegetal.

As partes aéreas de *Piper callosum* (FIGURA 1) foram coletadas no Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET), da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), na cidade de Itacoatiara (AM), no mês de março de 2018, período da manhã, horário onde a temperatura encontra-se mais amena.



Figura 1 - Piper Callosum

4.2 Extração do óleo essencial.

O material botânico recém coletado e pesado foi submetido a hidrodestilação por um período de 5 horas em aparelho de Clevenger (FIGURA 2). Em seguida, o óleo obtido foi centrifugado por 10 minutos a 3500 rpm (rotação por minuto). O óleo essencial foi separado com auxílio de uma micropipeta, em seguida foram armazenados sob refrigeração em frascos âmbar tampados até o momento de serem analisados.



Figura 2 - Hidrodestilação em aparelho de Clevenger.

Fonte: Autor, 2017.

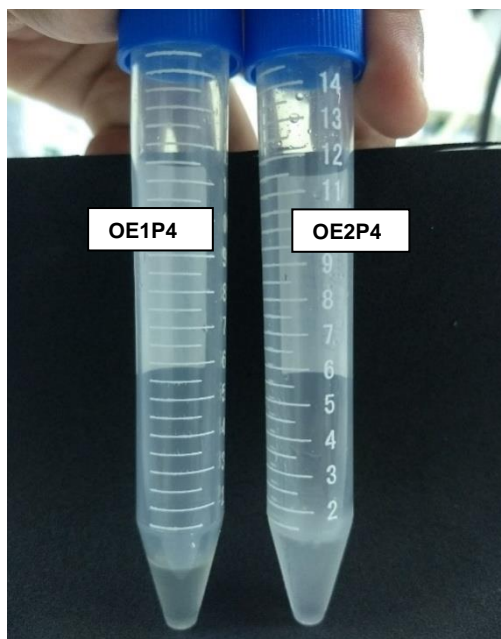


Figura 3 - OE1P4: óleo essencial menos denso; OE2P4: óleo essencial mais denso

Fonte: Autor, 2017.

4.3 Identificação dos componentes químicos dos óleos essenciais

As análises foram realizadas com a utilização de equipamento da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP. O óleo essencial extraído foi submetido à análise em CG-EM em equipamento SHIMADZU acoplado a um espectrômetro de massas SHIMADZU QP2010. Para cromatografia dos componentes foi empregada coluna DB-5MS, com 30 m x 0,25 mm, espessura do filme interno de 0,25 µm. Para a identificação dos constituintes fez-se interpretação de seus respectivos espectros de massas, cálculo do Índice de retenção e comparação com dados da literatura.

4.4 Análise de Atividade inseticida

O ensaio da avaliação da atividade inseticida foi realizado na FCA/UNESP-Botucatu, sob supervisão do Prof. Dr. Edson Luiz Lopes Baldin.

Para a realização do bioensaio foi mantida uma criação estoque de *Z. subfasciatus* em câmara climatizada, tipo B. O. D. (T = 25°C±2°C; UR = 70% e fotofase = 12h). Os insetos utilizados nas avaliações tinham no máximo 24h de idade. Foram aplicados 0, 1, 2, 3, 4 e 5 µL, do óleo essencial mais denso (OE2P4). Os óleos foram aplicados com o auxílio de uma micropipeta sobre um disco de papel de filtro acoplado sobre a tampa (parte interna) de frascos plásticos de 50 mL, constituindo assim as concentrações de 0; 0,002; 0,004; 0,006; 0,008 e 0,01%, respectivamente. Foi adotado um delineamento experimental inteiramente casualizado, efetuando-se 4 repetições por tratamento, perfazendo um total de 24 tratamentos. Cada parcela foi constituída por 10g de grãos de feijão *Phaseolus vulgaris* variedades "Bolinha", acondicionados no interior dos recipientes, juntamente com cinco casais de *Z. subfasciatus* e o disco de papel tratado. As avaliações de mortalidade foram realizadas 24, 48 e 72 horas após a aplicação dos óleos.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a (P≤0,05), utilizando-se o software estatístico SISVAR. Quando necessário, os dados foram transformados em $(x + 0,5)^{1/2}$. Os dados de mortalidade em função das concentrações foram submetidos à análise de Probit, utilizando-se o Stat Plus 2007 Professional Build 4.7.5.0, a fim de determinar-se a DL₅₀. As eficiências de Controle foram determinadas utilizando-se a formula Abbott (NAKANO et al.,1981)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento e composição química do óleo essencial de *Piper callosum*

No processo de hidrodestilação foram extraídos dois óleos essenciais da espécie, com características distintas entre si. O primeiro óleo coletado era incolor e mais denso que a água (OE2P4), enquanto de o segundo apresentava uma cor amarelada e menos denso que a água. O rendimento total obtido foi de 0,34%. O rendimento foi semelhante ao encontrado em uma espécie peruana no valor de 0,35% (MARCEL, 1999). Em um estudo de análises de rendimento de 4 espécies de Piper (*P. aduncum*, *P. hispidum*, *P. sp.* e *P. callosum*) observou-se o melhor rendimento foi de *P. callosum* (REGINFO-SALGADO et. al, 2010). Comparando ao calculado no presente estudo, a espécie encontra-se, com rendimento dentro dos valores relatados na literatura.

Cálculo de rendimento:

$$R = \frac{v \text{ (ml)}}{m \text{ (g)}} \times 100\%$$

R: rendimento;

m: massa do material botânico;

v: volume de óleo extraído.

$$R \text{ (OE1P4)} = \frac{0,240 \text{ ml}}{131,7 \text{ g}} \times 100\% = 0,18 \%$$

$$R \text{ (OE2P4)} = \frac{0,220 \text{ ml}}{131,7 \text{ g}} \times 100\% = 16 \%$$

As substâncias químicas presentes nos óleos essenciais, tanto menos densos quanto mais densos que a água, estão representadas na Tabela 2.

Tabela 1 - Rendimento de óleo essencial de *Piper callosum*.

| Mês/ 2017 | Massa do material vegetal (g) | Código da amostra | Volume OE (µL) | Rendimento (%) | Rendimento total (%) |
|--------------|-------------------------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|
| Março | 131,7 | OE1P4 | 240 | 0,18 | 0,34 |
| | | OE2P4 | 220 | 0,16 | |

OE1P4: óleo essencial menos denso da planta nº 4; **OE2P4:** óleo essencial mais denso da planta nº 4.

Tabela 2 - Composição química do óleo essencial de *P. callosum*.

| <i>Substâncias</i> | <i>Ri (ADAMS, 2017)</i> | <i>OE1P4</i> | <i>OE2P4</i> |
|----------------------|-------------------------|--------------|--------------|
| Safrol | 1287 | 47,16 | 79,26 |
| β- Pineno | 979 | 10,72 | 5,73 |
| metil-eugenol | 1403 | 7,41 | 3,74 |
| - Terpineno | 1059 | 4,69 | 2,46 |
| -Pineno | 939 | 4,32 | 1,34 |
| D germacreno | 1481 | 2,73 | 0,26 |
| Elemicina | 1557 | 1,80 | - |
| (E) -Cariofileno | 1419 | 1,80 | 0,16 |
| -Terpineno | 1017 | 1,78 | 0,96 |
| 1,8 - Cineol | 1031 | 0,86 | 1,43 |
| -Muuroleno | 1479 | 1,43 | - |
| -copaeno | 1376 | 1,26 | 0,06 |
| Terpinoleno | 1088 | 1,15 | 0,58 |
| Muurolol | 1646 | 1,12 | - |
| -eudesmol | 1650 | 1,71 | 0,64 |

IR: índice de retenção; **OE1P4** óleo essencial menos denso que a água; **OE2P4:** óleo essencial mais denso que a água

De acordo com os dados, detectou-se que os compostos majoritários presentes no óleo essencial menos denso que água foram safrol (47,16%), β – pineno (10,72%), e metil eugenol (7,41%). E os compostos majoritários do óleo essencial mais denso foram, safrol (79,26%), β – pineno (5,73%). Nota-se que o safrol possui um elevado teor no óleo mais denso, enquanto que β – pineno e metil eugenol apresentaram valores reduzidos no óleo mais denso em relação ao óleo menos denso.

Salehi (2019) demonstra através de análise de diversos estudos, que o *safrol* é o composto frequentemente encontrado na espécie *Piper callosum*. Mesmo em diferentes condições de luminosidade durante o crescimento, o composto ainda permanece como predominante (CHAVES, 2012). Souto et al (2012) também fortalece a presença predominante do composto químico safrol na espécie botânica, e confirma também a evidência de outras substâncias majoritárias como metileugenol, β-pineno e α-pineno, substâncias com atividades biológicas importantes.

5.2 Análise de atividade inseticida

No bioensaio, constatou-se que o óleo essencial apresentou efeito fumigante sobre o inseto *Zabrotes subfasciatus* em período de exposição de 48h nas concentrações de 0,01 µL/L de ar com DL50 de 0,41

Tabela 3 - Relação dose versus tempo de exposição.

| Tempo de Exposição | DL ₅₀ (µL/L) | IC |
|--------------------|-------------------------|---------|
| 24h | 0,78 | 0,7-0,8 |
| 48h | 0,53 | 0,4-0,5 |
| 72h | 0,41 | 0,3-0,4 |

DL: Dose letal (µL/L de ar). IC: Intervalo de confiança a 95% de probabilidade

Tabela 4 - Atividade fumigante (Porcentagem de mortalidade dos adultos) do óleo essencial de *P. callosum* contra *Z. subfasciatus*.

| Doses óleo (µL/L de ar) | Tempo de Exposição | | |
|----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 24 h | 48 h | 72 h |
| 0,002 | 0,0±0,0 d | 7,5±0,9 cd | 17,5±0,9 c |
| 0,004 | 10,0±0,8 cd | 32,5±2,2 bc | 50,0±1,6 b |
| 0,006 | 30,0±1,15 bc | 67,5±2,1 ab | 80,0±1,4 a |
| 0,008 | 42,5±2,63 bc | 77,5±2,2 ab | 100,0±0,0 a |
| 0,01 | 85,0±1,00 a | 100,0±0,0 a | 100,0±0,0 a |

Em um estudo de análises inseticidas de espécies botânicas constatou-se uma sensibilidade provocada no inseto *Z. subfasciatus* após a aplicação de pós em saches de TNT (tecido não tecido) de *Piper aduncum*, durante 7 dias de incubação, determinando esta espécie como alternativa promissora no controle de dessas pragas (SILVA, 2016). Santos (2018), determinou também atividade inseticida de *P. nigrum*, na aplicação de pós no inseto.

O *Z. subfasciatus* tem demonstrado sensibilidade a diversos óleos essenciais como *Chenopodium ambrosioides* L., *Ocimum gratissimum* L. e *Schinustere binthifolius* Raddi (Bernardes et. al, 2018). Mostrando que além dos pós, os óleos essenciais possuem ação inseticida contra o *Zabrotes subfasciatus* e podem servir de alternativa ao manejo de

pragas de grãos armazenados. De acordo com Houghton (2006), o óleo essencial de *Piper betle* apresentou efeito inseticida contra o gorgulho do feijão (*Callosobruchus maculatus* F.), gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) e broca menor (*Rhizopertha dominica* F.). Outro estudo demonstrou atividade inseticida de duas espécies de *Piper* sobre o inseto *Z. subfasciatus* (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae), e considerou o óleo obtido de *Piper aduncum* com maior efeito inseticida apresentado (BRITO et al 2012). Souto (2012) revela a propriedade inseticida do óleo essencial de *P. callosum* em formigas de fogo.

O efeito contra insetos pode estar relacionado às substâncias presentes no óleo como monoterpenos, sesquiterpenos, pois os monoterpenos possuem ação inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) (SILVA, 2017). Como demonstrado no presente trabalho, a espécie *P. callosum* apresenta em sua composição, alto teor de safrol, e substâncias como beta-pineno, *metileugenol* e de acordo com Souto (2012) são substâncias com atividade inseticida relatada na literatura.

Por outro lado, vale ressaltar que o efeito biológico de óleos essenciais não se restringe apenas na ação de um composto químico e sim sobre efeito sinérgico de uma variedade de substâncias presentes (VARDAR-UNLU, 2003). E como demonstrado o óleo volátil da espécie *P. callosum* tem uma ampla variedade de substâncias em sua composição. De acordo com Saad (2018), seis monoterpenos testados, entre eles o *alfa-pineno*, e sesquiterpenos, incluindo o *eugenol*, as mesmas substâncias presentes no óleo essencial de *Piper callosum*, exibiram mortalidade em insetos.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo revelou que a espécie *P. callosum* apresenta diferença no teor das substâncias químicas do óleo essencial menos denso e mais denso. O rendimento foi de 0,34%, demonstrando presença predominante de safrol. E por fim, apresentou propriedade inseticida contra o *Z. subfasciatus*. Tendo em vista a ação contra o inseto, considera-se importante o estudo dessa espécie frente a outras pragas de produtos armazenados. Para avaliar o efeito e testes clínicos de intoxicação em seres humanos em longos períodos de uso.

7 REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P.; **Identification Of Essential Oil Components By Gas Chromatography**. ed. 4.1, Jan. 2017.

ALI, B. et al; Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 8, p. 601-611, 2015.

ALMEIDA, R. N. et al; Essential oils and their constituents: anticonvulsant activity. **Molecules**, v. 16, n. 3, p. 2726-2742, 2011.

ALMEIDA, C. A. et al.; Piper Essential Oils Inhibit *Rhizopusoryzae* Growth, Biofilm Formation, and Rhizopus pepsin Activity. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**,v. 24, n. 7, p. 1364, 2018.

ALTIERI, M; SILVA E. N.; NICHOLLS, C. O.; Papel da biodiversidade no manejo de pragas. Ribeirão Preto: **HOLOS**, p. 226, 2003.

ANDRADE, E. H. A.; GUIMARAES, E.F.; MAIA, J.G.S. **Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de Piper da Amazônia**. 22.ed. Belém: FEQ/UFPA, 448p. , 2009.

ASIAEI, E. O.; MOGHIMIPOUR, E.; FAKOOR, M. H.; Evaluation of Antimicrobial Activity of *Eucalyptus camaldulensis* Essential Oil Against the Growth of Drug-Resistant Bacteria. **Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products**, v. 13, n. 4, 2018.

BALDIN, E. L. L; PEREIRA, J. M.; Resistance of genotypes to *Zabrotessubfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Bruchidae.) **Ciências e Agrotecnologia**, v.34, n.6, p. 1507-1513, 2010.

BATISTA, A. C. et. al; Produção de biomassa e teor de óleo essencial de plantas de óleo elétrico (*Piper callosum* Ruiz & Pav.) em diferentes níveis de luminosidade nas condições de Manaus-AM. In: **Embrapa Amazônia Ocidental-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 30, n. 2, p. S5797-S5804, jul. 2012. Suplemento, 2012.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M.; Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas, **Química Nova**, v.32, n.3, p.588-594, 2009.

BRITO, S. S. S. et. al; Avaliação do potencial inseticida dos óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* sobre praga de grão armazenado. **Horticultura Brasileira** 30: S1021-S1027 **Hortic. bras.**, v. 30, n. 2, julho 2012.

BRITO, A. M. G. et. al; Aromaterapia: da gênese a atualidade; **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.15, n.4, p.789-793, 2013.

CALO, J. R. et. al; Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.

CHAUBEY, M. K. et. al; Fumigant toxicity of essential oils against rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Biological Sciences**, v. 11, n.6, p. 411-416, 2011.

CHAUDHRY, M. Q.; Resistencia à fosfina. **Pesticide Outlook**, v. 11, n.3,p. 88-91, 2000.

CHAVES, F. C. M. et. al; Variação da composição química do óleo essencial de *Piper callosum* Ruiz & Pav. em função de níveis de luminosidade. In: **Embrapa Amazônia Ocidental – Resumo em Anais de congress (ALICE)**. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MEDICINAL AND NUTRACEUTICAL PLANTS, 3.; 2012, Aracajú. [Abstracts...]. Aracajú: ISHS; UFS, SBCTA, 2012. 1 CD-ROM., 2012.

CLEMES, S. M. et. al; Seasonality and hydrodistillation time effects on the yield and chemical composition of leaves essential oil of *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel. **Eclética Química Journal**, v. 40, n.1, p. 117-125, 2018.

CORREA, M. S. et. al; Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, 2019.

DANIEL, M.; **Plantas medicinais: química e propriedades**. CRC press, 2016.

DIB, I. et. al; Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 17, n. 1, p. 82, 2017.

FACUNDO, V. A.; MORAIS, S. M.; BRAZ-FILHO, R.; **Flavonóides de *Piper callosum* da Amazônia**, 2008 .Disponível em: www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/0765-2/index.html. Acesso em 01/05/2019

FARIAS, P. K. S. et. al; Antioxidant activity of essential oils from condiment plant and their effect on lactic cultures and pathogenic bacteria. **Ciência Rural**, v. 49, n. 2, 2019.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, JLV. Piperáceas da Amazônia com potencial de uso inseticida. In: **Embrapa Acre-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINARIO DE ENTOMOLOGIA E ACAROLOGIA AGRÍCOLA NA AMAZÔNIA, 1., 2011, Manaus. Resumos... Manaus: SociedadeEntomológica do Brasil, 2011. 1 CD-ROM., 2011.

FERREIRA, A.M. Subsídios para o estudo de uma praga do feijão (*Zabrotes subfasciatus* Boh. - Coleoptera, Bruchidae) dos climas tropicais. **Garcia de Orta**, v. 8, n. 3, p. 559-581, 1960.

FRANZ, C. M.; Essential oil research: past, present and future. **Flavour and fragrance journal**, v.25, n.3, p. 112-113, 2010.

GIROLA, N. et. al; Camphene isolated from essential oil of *Piper cernuum* (Piperaceae) induces intrinsic apoptosis in melanoma cells and displays antitumor activity in vivo. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 467, n. 4, p. 928-934, 2015.

GOLOB, P.; KILMINSTER, A. The biology and control of *Zabrotes subfasciatus* (Bohemian) (Coleoptera: Bruchidae) infesting red kidney beans. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 18, p. 95-101, 1982.

GUIMARÃES, E. F.; Monteiro, D.;Piperaceae neotropical. In: Milliken, W., Klitgard, B. & Baracat, A. (2009 em diante), Neotropikey – Recursos de Informação e chave interativa para plantas com flores dos neotrópicos, Disponível em: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Piperaceae/Piper/> Acesso dia 09 de junho de 2019.

HOUGHTON P. J.; REN Y, HOWES M. J.; Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. **Natural Product Reports** v.23 p. 181, 2006.

ISMAN, M. B.; Plant essential oils for pest and disease management. **Crop protection**, v. 19, n. 8-10, p. 603-608, 2000.

JAIROCE, C. F. et. al; Insecticide activity of clove essential oil on bean weevil and maize weevil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 72-77, 2016.

KHALIL, Noha et. al; Composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de frutos apiários selecionados. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4,n. 1, p 88-92, 2018.

KRINSKI, D. et. al; Chemical composition and nymphicidal effect of essential oils from fruits for four *Piper* species (Piperaceae) against *Tibracalim bativentris* nymphs (Hemiptera: Pentatomidae). In: **Embrapa Arroz e Feijão-resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO LATINO –AMERICANO DE ENTOMOLOGIA,9., 2016, Maceió. Anais. Brasília, DF: Embrapa, 2016.

LE, T. B. et. al.; Anti-protozoal activity of essential oils and their constituents against Leishmania, Plasmodium and Trypanosoma. **Phytochimie**, v. 1, p. 1-33, 2018.

LIMA, Rafaela Karin et. al; Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta amazônica**, v. 39, n. 2, p. 377-382, 2009.

LIMA, J.O.G. DE; SILVA, F.A.P.; FARONI, L.R.A. **Insetos de Grãos Armazenados**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 99, p.46-53, 1983.

MAIA, T. F.; DONATO, A.; FRAGA, M. E.; Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 1, p. 105-116, 2015.

MELO, B. A. et. al; Inseticidas botânicos no controle de pragas de produtos armazenados. **Revista Verde (Mossoró-RN-Brasil)**, v. 6, n. 4, p 01-10, 2011.

MGBEAHURUIKE, E. E. et. al; Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on *Piper* species. **South African Journal of Botany**, v. 112, p. 54-69, 2017.

MIRANDA, C. A. S. F. et. al; Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MARCEL, H. P. et. al; Compositional analysis of the leaf oils of *Piper callosum* Ruiz & Pav. from Peru and *Michelia Montana* Blume from India. **Journal of Spectroscopy**, v. 14, n. 2, p. 51-59, 1999.

MONZOTE, L. et. al; Essential oil from *Piper aduncum*: chemical analysis, antimicrobial assessment, and literature review. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 49, 2017.

MOSSA, A. T. H.; Green pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 9, n. 5, p. 354, 2016.

MOSTAFA, A. A. et. al; Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. **Saudi journal of biological sciences**, v. 25, n. 2, p. 361-366, 2018.

NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R. A. **Entomologia econômica**. São Paulo: Livro ceres, 314p 1981.

NEGREIROS, J. R. da S.; MIQUELONI, D. P.; ALVARES, V. de S.; Comportamento do composto majoritário de óleos essenciais de espécies de *Piper* da Amazônia sob armazenamento. **Embrapa Acre-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2017.

OLIVEIRA, A.M.; PACOVA, B.E.; SUDO, S.; ROCHA, A.C.M.; BARCELLOS, D.F. Incidência de *Zabrotes subfasciatus* Bohemann, 1853 e *Acanthoscelides obtectus* Say, 1831 em diversas cultivares de feijão armazenado (Col., Bruchidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.8, p.47-55, 1979.

REGINFO-SALGADO, E. L.; FERNANDEZ-VILCHEZ, C. M.; VARGAS-ARANA, G.; Búsqueda y evaluación de aceites esenciales em espécies amazônicas. **Folia Amazónica**, v. 20, n. 2-1, p. 29-32, 2010.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, MARILYN K.; TYLLER, VARRO E.; **Farmacognosia e farmacobiotechnologia**. São Paulo: Editora Premier, A ciência em livros, 1997.

RODRÍGUEZ, H.C. Plantas contra plagas: potencial práctico de ajo, anona, nim, chile e tabaco. Texcoco, México. **Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México(RAPAM)**, 133 p. 2000.

RUFINO, A. S.; FREITAS, A. D. G.; Uso de extrato da Pimenta Longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) como inseticida sobre o cupim (*Cryptotermes brevis* Walker) no município de Coari, Amazonas, em condições experimentais. **Scientia Amazonia**, v. 7, n.2, B44-B54, 2018.

SAAD, Mona M. G.; ABOU-TALEB, Hamdy K.; ABDELGALEIL, Samir A. M. Insecticidal activities of monoterpenes and phenylpropenes against *Sitophilus oryzae* and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. **Applied entomology and zoology**, v. 53, n. 2, p. 173-181, 2018.

SANTOS, V. S. V.; RAMALHO, P. R.; PÁDUA, L. E. M.; Atividade inseticida de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Chrysomelidae: Buchidae) em grãos de feijão fava. **HOLOS**, v.24 n.7, p.53, 2018.

SALEHI, B. et al.; Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry Biological Activities and Applications. **Molecules**, v. 24, n. 7, p. 1364, 2019.

SAMAIN, M. et. al; Verhuelliais a segregate elineage in Piperaceae: more evidence from flower, fruit and pollen morphology, anatomy and development. **Annals of botany**, v. 105, n. 5, p. 677-688, 2010.

SILVA, R. J. F. et. al; Morphoanatomicalandphysicochemical profile of *Piper callosum*: valuableassessment for its qualitycontrol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 1, p. 20-33, 2017.

SILVA, K. F.; BALDIN, E. L. L.; DA ROCHA PANNUTI, L. E.; Inseticidas vegetais como alternativa para o manejo do caruncho-do-feijão. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 2, p. 348-357, 2016.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et. al; Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª ed. Editora da UFRGS e UFSC, 2010.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et. al; **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Editora: Artmed, 2017.

SOUTO, R. N. P. et. al; Insecticidal activity of *Piper* essential oils from the Amazon against the fireant *Solenopsis saevissima* (Smith)(Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical entomology**, v. 41, n. 6, p. 510-517, 2012.

TAKEARA, R. et al. Biological Properties of Essential Oils from the Piper Species of Brazil: A Review. In: EL-SHEMY, H. A. **Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature**. Publish: In Tech, 2017. p. 82-93.

TEBBS, M. C.; **Piperaceae, In Flowering Plants – Dicotyledons**. Springer, Berlim, Heidelberg, p. 516-520, 1993.

TORRES-PELAYO et. al; A phytochemical and ethnopharmacological review of the genus Piper: as a potent bio-insecticide. **Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 2, p. 45-51, 2016.

VAN DEN BERG, M. A.; SILVA, M. H.; Plantas medicinais do Amazonas. **Anais do Primeiro Simpósio do Trópico Úmido**, v. 12, p. 127-133, 1986.

VANDAR-UNLU, Gulhan et al. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fish. Et Mey. *Var. pectinatus* (Lamiaceae). **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 1, p. 63-67, 2003.

WANG, H. et.al; Anti-oxidant activity and major chemical component analyses of twenty-six commercially available essential oils. **Journal of food and drug analysis**, v. 25, n. 4, p. 881-889, 2017.

WILLIAMS, M. A.; WYNER, S. N.; Antimicrobial Resistance: Facing the Rise of a Global Threat. **AJPH BOOK & MEDIA**.; v. 109, n.4, p. 246, 2019.