

ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS-RESINA DE COPAÍBA SOBRE ADULTOS DE *Utomoides* (=Palemus) *dermestoides*

Deisiane Aparecida da Silva (IC), (Universidade Tecnológica Federal do Paraná),
kdeisi_kontigo@hotmail.com
Paulo Mitsuo Imamura, (Universidade Estadual de Campinas), imam@iqm.unicamp.br
Adriano Lopes Romero (OR), (Universidade Tecnológica Federal do Paraná),
adrianoromero@utfpr.edu.br

RESUMO: O controle de pragas baseado em produtos naturais visa à redução do uso dos inseticidas tradicionais que apresentam elevado impacto ambiental e alto nível de resíduos nos produtos tratados. Entre os produtos naturais com atividade inseticida destaca-se o óleo-resina de copaíba, que nos últimos anos vêm sendo estudado frente a uma grande variedade de insetos. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade inseticida de óleos-resina de copaíba comerciais sobre *U. dermestoides*. No teste de avaliação inseticida sem chance de escolha observou-se que amostras de óleo-resina de copaíba com maior concentração de sesquiterpenos possuem maior atividade inseticida do que amostras com alto teor de ácidos resínicos. Esta observação foi comprovada utilizando β -cariofileno, isolado de um dos óleo-resina estudados neste trabalho, que apresentou a melhor atividade inseticida entre todas as amostras avaliadas. No teste de atividade repelente com livre chance de escolha, observou-se que o β -cariofileno possui boa atividade repelente. Estes resultados indicam a boa atividade inseticida de óleos-resina de copaíba mais claros e menos viscosos e sugerem que o β -cariofileno atua melhor como repelente do que como inseticida sobre *U. dermestoides*.

PALAVRAS-CHAVE: *Copaifera* spp.; óleo-resina; atividade inseticida.

INTRODUÇÃO

O controle de insetos-praga de grãos armazenados tem sido realizado em larga escala por meio de produtos químicos. As pesquisas atuais, o aumento no conhecimento dos prejuízos advindos do uso indiscriminado desses produtos, e a preocupação dos consumidores quanto à qualidade dos alimentos têm incentivado estudos relacionados a novas técnicas de controle de pragas, como o uso de inseticidas de origem vegetal (VIEGAS JR., 2003).

Entre os produtos naturais, de ampla ocorrência nacional, que possuem potencialidade de aplicação como inseticidas destaca-se o óleo-resina de copaíba. Existem alguns trabalhos na literatura sobre a atividade inseticida de óleos-resina de copaíba. Trindade *et al.* (2003), por exemplo, demonstraram que o óleo-resina de *Copaifera langsdorfii* apresentou atividade inseticida contra a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*. Silva *et al.* (2003) reportaram a atividade inseticida do óleo-resina de *Copaifera reticulata* sobre *Culex quinquefasciatus*. Fernandes *et al.* (2007) reportaram a atividade acaricida do óleo-resina de *Copaifera reticulata* sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Silva *et al.* (2007) reportaram que o óleo-resina de *Copaifera reticulata* possui atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. Em um trabalho posterior, Geris *et al.* (2008) isolaram deste óleo-resina os

ácidos diterpênicos 3-acetóxi-copálico, 3-hidróxi-copálico, 3 β -hidróxilabdan-8(17)-en-15-óico e agático e estudaram suas atividades larvicidas separadamente. Este estudo mostrou que apenas os diterpenos 3-acetóxi-copálico e 3-hidróxi-copálico exibiram atividade larvicida com LC₅₀ de 0,8 ppm e 87,3 ppm, respectivamente. Outros trabalhos reportam a atividade inseticida de óleos-resina de copaíba contra moscas negras da Amazônia, cupins da espécie *Reticulitermes flavipes* (LACEY *et al.*, 1981; JONES *et al.*, 1983) e gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*) (COITINHO *et al.*, 2006).

Entre os insetos utilizados para estudar atividade inseticida destaca-se o *Ulomoides* (= *Palembus*) *dermestoides*. Este inseto é um pequeno coleóptero cletrófago, praga de produtos armazenados e popularmente conhecido como besouro-do-amendoim e gorgojo (RUÍZ *et al.*, 2010), **Imagem 01**. O *Ulomoides* (= *Palembus*) *dermestoides* é oriundo da China e do sudeste asiático, sua área de ocorrência, atualmente, se estende por outros países, incluindo o Brasil, onde foi introduzido por pesquisadores e, provavelmente, por colônias japonesas (FENILLI, 1982). É considerado uma praga de grãos armazenados, tendo sido primeiramente encontrado em farelo de milho e aveia, na Malásia, porém, sua ocorrência já foi registrada em grãos de amendoim, arroz, aveia, farelo de cereais, feijão, gérmen de trigo, milho, soja e sorgo (HOFFMANN *et al.*, 2005).

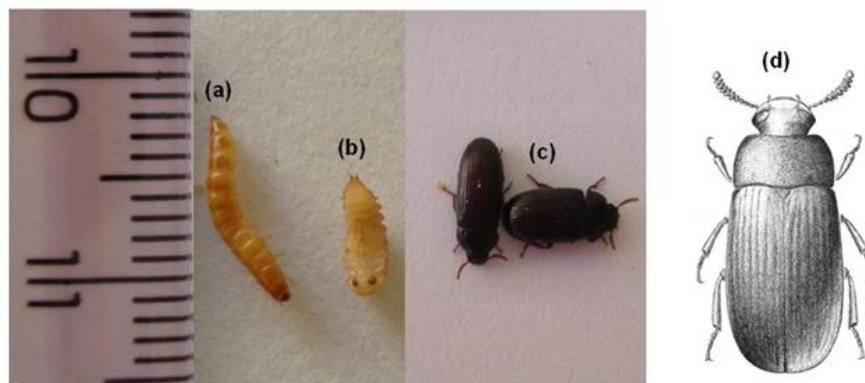


Imagem 01 - Diferentes estágios do desenvolvimento do inseto *Ulomoides* (= *Palembus*) *dermestoides*:
(a) larva; (b) pupa; (c) adulto; (d) descrição da literatura¹.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade inseticida de óleos-resina de copaíba comerciais, utilizando como modelo adultos da espécie *Ulomoides* (= *Palembus*) *dermestoides*.

¹ As características morfológicas do inseto *Ulomoides* (= *Palembus*) *dermestoides* são descritas em: <http://www.zin.ru/animalia/coleoptera/rus/gorgojo.htm>.

PARTE EXPERIENTAL

Cultura de *Ulomoides* (=Palembo) *dermestoides*

A cultura inicial de *Ulomoides* (=Palembo) *dermestoides* foi adquirida do aquarofilista Agostinho Monteiro, em abril de 2009. A propagação da cultura foi realizada na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, em condições ambiente (temperatura ambiente e fotoperíodo natural), em recipientes plásticos fechados com tampa plástica perfurada e revestida internamente com tecido fino para permitir as trocas gasosas. A alimentação das larvas e adultos consistiu de amendoins adquiridos no comércio de Campo Mourão. Os adultos utilizados na experimentação foram os mais ativos.

Amostras de óleo de copaíba

Utilizou-se, neste trabalho, seis amostras de óleos-resina de copaíba comerciais:

- AM-1: óleo-resina de *C. reticulata* adquirido da empresa Brasnatus.
- AM-2: óleo-resina de *C. officinalis* adquirido da empresa Brasnatus.
- AM-3: óleo-resina de *C. officinalis* adquirido da empresa Ferquima.
- AM-4: óleo-resina de copaíba adquirido da empresa Mapric.
- AM-5: resina de copaíba (fração não-volátil obtida após o processo de destilação do óleo-resina de copaíba bruto) adquirido da empresa Riken.
- AM-6: bálsamo de copaíba (fração volátil obtida por destilação a partir do óleo-resina bruto) adquirido da empresa Riken.

Efeito de óleos-resina de copaíba em *Ulomoides* (=Palembo) *dermestoides*. Teste sem chance de escolha.

Os óleos-resina de copaíba foram testados nas doses de 50µL/20g de grãos de amendoim à temperatura ambiente. Os grãos foram colocados no interior de recipientes de plástico e impregnados com cada óleo, com auxílio de pipetador automático e os recipientes agitados manualmente durante dois minutos. Cada parcela de 20g de grãos foi acondicionada em recipiente de plástico, com tampa perfurada, permitindo trocas gasosas com o exterior e infestada com dez adultos de *Ulomoides* (=Palembo) *dermestoides* de diferentes idades.

Decorridos cinco dias do confinamento, efetuou-se a contagem dos insetos vivos e mortos, descartando-os em seguida. Os adultos emergidos foram quantificados e descartados em avaliações

diárias, a partir do 35º dia do confinamento até o término da emergência (cinco dias consecutivos sem emergência). O experimento foi acompanhado por 4 meses.

Efeito de óleos-resina de copaíba em *Ulomoides (=Palembus) dermestoides*. Teste com livre chance de escolha.

Os experimentos foram conduzidos à temperatura ambiente, utilizando-se o mesmo tipo de amendoim, óleo-resina e dose do teste sem chance de escolha. Os óleos foram testados em papel filtrado, demarcados simetricamente utilizado um lápis, colocados em uma placa de Petri. Em um dos lados, colocou-se 3 amendoins e adicionou-se 50 µL de óleo-resina de copaíba ou óleo de soja. No teste controle não adicionou-se nenhuma substância em nenhum dos lados. Após impregnação da substância a ser avaliada no papel filtro e nos amendoins colocou-se no lado oposto 10 adultos de *U. dermestoides*. Cada óleo foi testado separadamente em triplicata. Observou-se na primeira hora o comportamento dos insetos em relação ao lado contendo substância. Após 24 horas observou-se o número de insetos que cruzaram a demarcação em busca de alimento.

Métodos gerais

A composição química dos óleos-resina de copaíba foi estudada utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e por ressonância magnética nuclear (RMN). O β-cariofileno foi isolado, do óleo-resina do óleo-resina de *C. reticulata* (AM-01), utilizando cromatografia em coluna de sílica gel eluída com *n*-hexano.

As análises de CG-EM foram realizadas empregando-se um cromatógrafo Hewlett Packard 6890, acoplado a um detector seletivo de massas, operando com uma fonte de elétrons com energia de ionização de 70 eV. O cromatógrafo operava com coluna capilar de sílica fundida do tipo HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Empregou-se hélio de alta pureza como gás de arraste, com fluxo de 1 mL/min. As análises foram realizadas com injetor operando a 250°C e interface a 280°C. Os volumes injetados foram de 1 µL de solução, sem divisão de fluxo.

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram obtidos em espectrômetros Gemini 300P-Varian Instrumentos (300,06 MHz para ¹H e 75,45 MHz para ¹³C). Os deslocamentos químicos foram registrados em δ, tomando-se como padrões de referência interna o tetrametilsilano ou o CDCl₃.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro ensaio realizado com o inseto *Ulomoides dermestoides* foi a avaliação da atividade inseticida sem chance de escolha (**Imagem 02**). Neste teste, observou-se que os óleos-resina de

copaíba comerciais adquiridos de diferentes empresas apresentaram efeitos diferenciados sobre os adultos de *U. dermestoides* (**Imagem 02**).

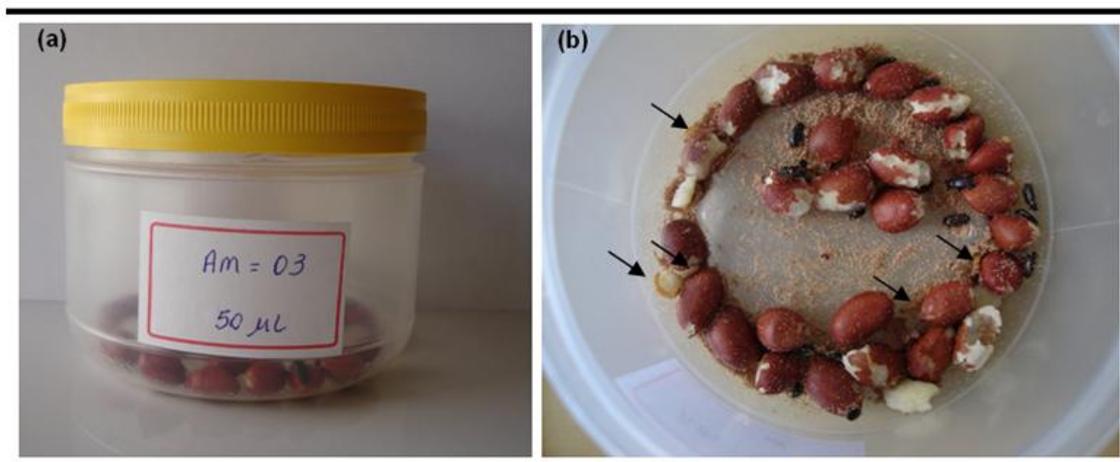


Imagem 02 - (a) Exemplo de recipiente plástico utilizado na avaliação inseticida sem chance de escolha (início do experimento); (b) Emergência de insetos observada no teste com a amostra 03 (4 meses após o início do experimento).

Nas primeiras horas de contato com os óleos-resina de copaíba, observou-se que os insetos demonstraram um nítido comportamento de fuga e exposição do órgão sexual, independente da amostra testada. Este comportamento passou, geralmente, após 4 ou 5 horas de contato. Com relação ao número de mortes de insetos, observou-se que amostras de óleo-resina de copaíba com maior concentração de sesquiterpenos (tais como AM-1 e AM-2) possuem maior atividade inseticida do que amostras com alto teor de ácidos resínicos (AM-5) (**Imagem 03**).

O β -cariofileno apresentou atividade inseticida de 73, 97 e 100%, no 2º, 4º e 6º dias do teste. Estes resultados indicam a boa atividade inseticida de óleo-resina de copaíba mais claros e menos viscosos sobre *U. dermestoides* e sugere também a neurotoxicidade desses óleos.

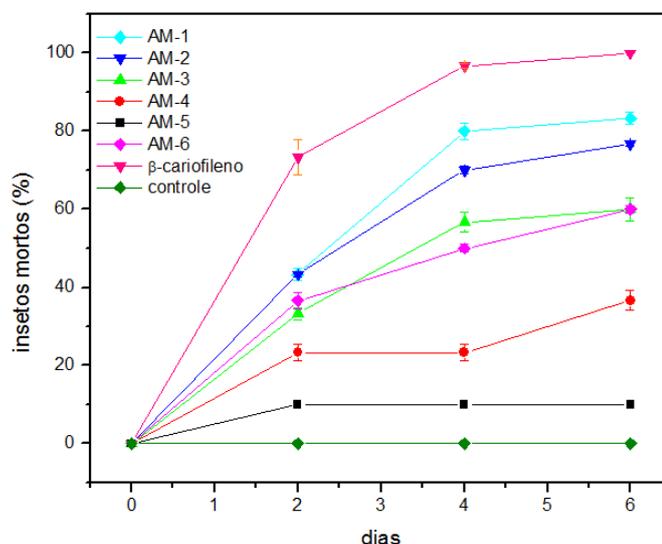


Imagem 03 - Efeitos de diferentes amostras de óleos-resina de copaíba comercial sobre adultos de *Ulomoides (=Palembus) dermestoides*.

Os frascos de todos os experimentos foram monitorados durante 4 meses para verificar a emergência de larvas, pupas e adultos. Verificou-se que, entre as amostras testadas, apenas os tratamentos com as amostras AM-03 {Imagem 02 (b)}, AM-04 e AM-05 permitiram a emergência de insetos.

Em estudos anteriores, Romero (2007) observou que os óleos-resina de copaíba claros e menos viscosos apresentam teor de sesquiterpenos mais elevados do que amostras escuras e mais viscosas. Esta observação é comprovada pela análise de CG-EM das amostras utilizadas neste trabalho, onde observa-se dois grupos principais de substâncias, resolvidos em faixas de retenções específicas e distintas. Os compostos presentes na região com menor tempo de retenção, fração majoritária, corresponde aos hidrocarbonetos sesquiterpênicos. A segunda região é constituída pelos ésteres metílicos dos ácidos diterpênicos (Imagem 04).

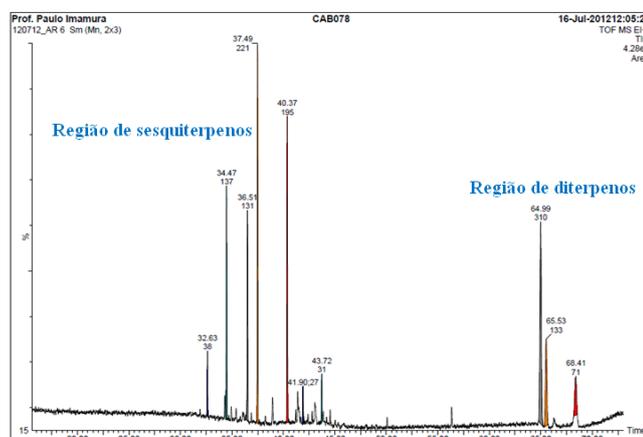


Imagem 04 - Cromatograma do óleo-resina de *Copaifera officinalis* (AM-03).

Para o bálsamo de copaíba (AM-06), como esperado, observou-se como classe majoritária a sesquiterpênica, uma vez que possui maior volatilidade. Os dados de CG-EM sugerem que esta amostra é constituída basicamente por óxido de cariofileno, cujo tempo de retenção nas condições de análise utilizada é 40.37 minutos. A presença deste composto foi confirmada por RMN de ^1H e de ^{13}C , assim como pela análise do espectro de massas (**Imagem 05**), cujos dados estão de acordo com Romero (2007).

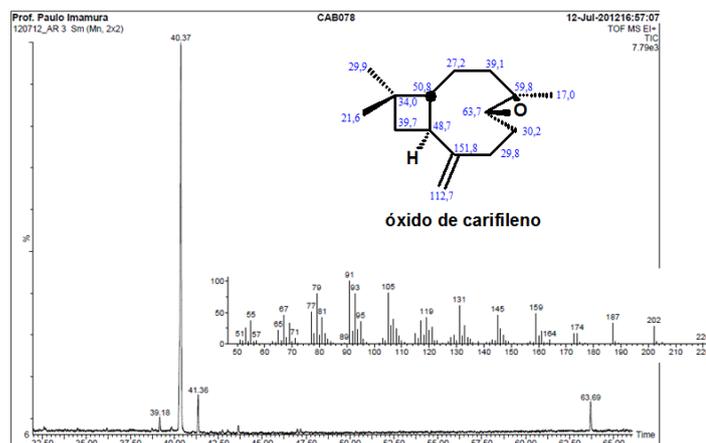


Imagem 05 - Cromatograma do bálsamo de copaíba (AM-06) e apresentação dos deslocamentos químicos de ^{13}C e espectro de massas do óxido de cariofileno.

No teste de atividade repelente com livre chance de escolha, observou-se que nenhum inseto cruzou a demarcação para o lado contendo β -cariofileno em busca de alimento (**Imagem 05**). Já nos testes sem adição de amostra (testemunha) e com adição de óleo de soja (controle) observou-se que

todos os insetos cruzaram a demarcação em busca de alimento. Esses resultados sugerem a boa atividade repelente de óleos-resina de copaíba sobre adultos de *U. dermestoides*. O estabelecimento desses critérios deveu-se ao fato de que o comportamento dos adultos de *U. dermestoides* é migração por toda a placa de Petri até encontrar alimento.

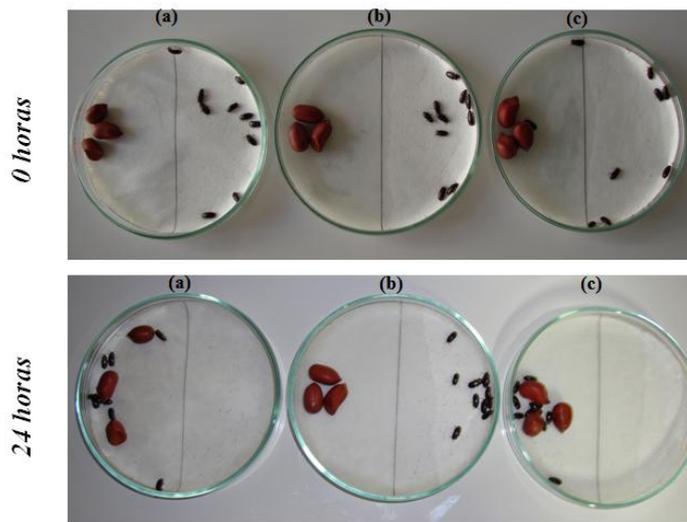


Imagem 05 - Avaliação da atividade repelente do óleo-resina de copaíba: (a) sem adição de substância no lado esquerdo; (b) adição de 100 μ L de β -cariofileno; (c) adição de 100 μ L de óleo de soja.

Esses resultados sugerem que o β -cariofileno atua melhor como repelente do que como inseticida para adultos de *U. dermestoides*. Dados da literatura corroboram com esta hipótese, tal como os trabalhos realizados por Messer *et al.* (1990) e Hubbell *et al.* (1983). Messer *et al.* (1990) concluíram que o β -cariofileno presente em resinas produzidas por árvores do gênero *Dipterocarpus* era o constituinte responsável pela defesa contra cupins *Neotermes* spp.. Hubbell *et al.* (1983) observaram que as folhas das árvores do gênero *Hymenea* nunca era atacada por formigas cortadeiras *Atta cephalotes*. As folhas coletadas por essas formigas servem de substrato para o crescimento de fungos específicos que são utilizados como alimento para suas larvas. Neste contexto, Hubbell *et al.* (1983) realizaram um estudo bioguiado que levou ao isolamento do β -cariofileno e do óxido de cariofileno que possuía atividade repelente 20 vezes maior do seu precursor. Esses pesquisadores observaram também que o óxido de cariofileno possuía uma forte atividade antifúngica contra os fungos que se desenvolviam em colônias de *Atta cephalotes*. Desta forma, concluiu-se que o óxido de cariofileno poderia ser tóxico para as formigas, tóxico para os fungos ou para ambos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados neste trabalho indicam que os óleos-resina de copaíba são promissores para o controle do inseto *Ulomoides dermestoides* que é considerado uma praga de vários grãos armazenados. Os principais benefícios da utilização dos óleos-resina de copaíba, em substituição aos praguicidas sintéticos, serão a minimização dos problemas de contaminação ambiental, dos resíduos em alimentos e dos efeitos prejudiciais sobre organismos benéficos.

REFERÊNCIAS

COITINHO, Rodrigo L. B. C.; OLIVEIRA, José V.; GONDIM JUNIOR, Manuel G. C.; CÂMARA, Cláudio A. G. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. **Caatinga**, v.19, n.2, p.176-182, 2006.

FENILLI, Renato. **Ciclo biológico, morfologia e efeitos da radiação gama (⁶⁰Co) em adultos de *Palembus dermestoides* (Fairmaire, 1893) (Coleoptera, Tenebrionidae)**. Tese (Doutorado em Zoologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1982.

FERNANDES, Fernando F.; FREITAS, Ediméia P. S. Acaricidal activity of an oleoresinous extract from *Copaifera reticulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 147, p. 150-154, 2007.

GERIS, Regina; SILVA, Ionizete G.; SILVA, Heloísa H. G.; BARISON, Anderson; RODRIGUES-FILHO, Edson; FERREIRA, Antônio G. Diterpenoids from *Copaifera reticulata* Ducke with larvicidal activity against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae). **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 50, n. 1, p. 25-28, 2008.

HOFFMANN, Luciana G.; TEIXEIRA, Juliana S. G.; CORSEUIL, Elio. Imobilização de larvas de *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera, Tenebrionidae) sob baixa temperatura. **Biociências**, v. 13, n. 2, p. 119-121, 2005.

HUBBELL, Stephen P.; WIEMER, David F.; ADEJARE, Adeboye. An antifungal terpenoid defends a neotropical tree (*Hymenaea*) against attack by fungus-growing ants (*Atta*). **Oecologia**, v. 60, n. 3, p. 321-327, 1983.

JONES, Susan C.; CARTER, Fairie L.; MAULDIN, Joe K. *Reticulitermes flabipes* (Kollar) (Isoptera: Rhinotermitidae) responses to extracts from six Brazilian woods. **Env. Entomol.**, v. 12, n. 2, p. 458-462, 1983.

LACEY, L. A.; SCHRECK, C. E.; MCGOVERN, T. P., **Mosquito News**, v. 41, n. 2, p. 376-379, 1981.

MESSER, Adam.; MCCORMICK, Kevin; SUNJAYA; HAGEDORN, H. H.; TUMBEL, Ferny; MEINWALD, J. Defensive role of tropical tree resins: antitermitic sesquiterpenes from Southeast Asian Dipterocarpaceae. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 12, p. 3333-3352, 1990.

ROMERO, Adriano L. **Contribuição ao conhecimento químico do óleo-resina de copaíba: configuração absoluta de terpenos.** Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

RUÍZ, Rodrigo A. V.; SOTO, Carlos E.; OLAYA, Pedro E. G., *Ulomoides dermestoides* (Fairm) (Coleoptera: Tenebrionidae), aspectos sobre biología y capacidad de consumo en maní (*Arachis hypogaea* L.). Disponível em: <http://www.unalmed.edu.co/~cescobar/ulomoides/ulomoides.htm>. Acesso em: 01/09/2010.

SILVA, Ionizete G.; ZANON, Valéria O. M.; SILVA, Heloísa H. G. Larvicidal activity of *Copaifera reticulata* Ducke oil-resin against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Neotrop. Entomol.**, v. 32, p. 729-732, 2003.

SILVA, Heloísa H. G.; GERIS, Regina; RODRIGUES FILHO, Edson; ROCHA, Cleonice; SILVA, Ionizete G. Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae, Caesalpinoidea) against *Aedes aegypti*. **Rev. Soc. bras. Med. trop.**, v. 40, p. 264-267, 2007.

TRINDADE, R. C. P.; SILVA, P. P.; OLIVEIRA, D.S.; LIMA, I. S.; SANT'ANA, A. E. G. Efeito do óleo da copaíba, *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae: Caesalpinoideae) no desenvolvimento da Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Anais do 43º Congresso Brasileiro de Olericultura**, 2003.

VIEGAS JÚNIOR, Cláudio. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.